

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**  
**ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**  
**ΤΟΜΕΑΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ**  
**ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**  
**ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: Σ. ΠΟΤΑΜΙΑΝΟΣ**

**ΟΡΟΛΟΓΙΚΟΣ ΟΜΑΔΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΓΙΑ ΤΗΝ**  
**ΚΟΙΛΙΟΚΑΚΗ ΣΤΟΝ ΕΝΗΛΙΚΑ ΠΛΗΘΥΣΜΟ ΤΗΣ**  
**ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**

**ΒΙΟΛΕΤΑ Σ. ΡΟΚΑ**  
**ΓΕΝΙΚΟΣ ΙΑΤΡΟΣ**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**  
**ΛΑΡΙΣΑ 2006**



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗΣ & ΠΛΗΡΟΦΟΡΗΣΗΣ  
ΕΙΔΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ «ΓΚΡΙΖΑ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ»

Αριθ. Εισ.:	7605/1
Ημερ. Εισ.:	10-10-2009
Δωρεά:	Π.Θ.
Ταξιθετικός Κωδικός:	Δ
	616.34
	ΡΟΚ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ  
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



004000083736

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**

**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**

**ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΤΟΜΕΑΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ**

**ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

**ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: Σ. ΠΟΤΑΜΙΑΝΟΣ**

**ΟΡΟΛΟΓΙΚΟΣ ΟΜΑΔΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΓΙΑ ΤΗΝ  
ΚΟΙΛΙΟΚΑΚΗ ΣΤΟΝ ΕΝΗΛΙΚΑ ΠΛΗΘΥΣΜΟ ΤΗΣ  
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**

**ΒΙΟΛΕΤΑ Σ. ΡΟΚΑ**

**ΓΕΝΙΚΟΣ ΙΑΤΡΟΣ**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**ΛΑΡΙΣΑ 2006**

## **Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή**

Ποταμιάνος Σπυρίδων, Επ. Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας (Επιβλέπων)

Γερμενής Αναστάσιος, Αν.Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Πετεινάκη Ευφημία , Επ. Καθηγήτρια Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

## **Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή**

Ποταμιάνος Σπυρίδων, Επ. Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας (Επιβλέπων)

Γερμενής Αναστάσιος, Αν.Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Πετεινάκη Ευφημία , Επ. Καθηγήτρια Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Σταθάκης Νικόλαος, Καθηγητής Παθολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Φεζουλίδης Ιωάννης, Καθηγητής Ακτινολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Κουκούλης Γεώργιος, Καθηγητής Παθολογοανατομίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Καψωριτάκης Ανδρέας, Λέκτορας Γαστρεντερολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

## **ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ**

## ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

ΟΝΟΜΑ	Βιολέτα
ΕΠΩΝΥΜΟ	Ροκά
ΟΝΟΜΑ ΠΑΤΡΟΣ	Στέργιος
ΗΜ. ΓΕΝΝΗΣΗΣ	22 Μαΐου 1971
ΤΟΠΟΣ ΓΕΝΝΗΣΗΣ	Αθήνα
ΔΙΕΥΘΥΝΣΗ ΚΑΤΟΙΚΙΑΣ	Κραγιά 54, Νεάπολη, Λάρισα
ΤΗΛΕΦΩΝΟ ΚΑΤΟΙΚΙΑΣ	2410-623875

## ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ

- 1989 : Εισαγωγή στην Ιατρική Σχολή Εθνικού Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών μετά από Πανελλαδικές εξετάσεις
- 1996 : Αποφοίτηση από την Ιατρική Σχολή με βαθμό “λίαν καλώς”
- 2003 : Απόκτηση τίτλου ειδικότητας Γενικής Ιατρικής
- 2004 : Απόκτηση πιστοποιητικού επάρκειας «Μετεκπαιδευτικού Προγράμματος Επείγουσας Προνοσοκομειακής Ιατρικής» του ΕΚΑΒ
- 2002- σήμερα : Εκπόνηση διδακτορικής διατριβής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Σχολή Επιστημών Υγείας, Τμήμα Ιατρικής

## ΕΡΓΑΣΙΑΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

- 13-1-97 έως 17-11-97 : Υπηρεσία υπαίθρου στο Π.Ι Παναγίας Καλαμπάκας.
- 1998-2003 : Ειδίκευση στη Γενική Ιατρική ( Γενικό Νοσοκομείο Λάρισας)
- 23-7-03 έως σήμερα : Επιμελήτρια Β' Π.Ι Οιχαλίας Κ.Υ Φαρκαδώνας Τρικάλων, εφημερίες στο Κ.Υ Φαρκαδώνας
- 01-08- 2004 έως 31-01- 2005 :Εφημερίες στην κινητή μονάδα του ΕΚΑΒ Λάρισας

## ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ

- 2001 – σήμερα : Επιστημονικός και εργαστηριακός συνεργάτης του ΤΕΙ Λάρισας των Τμημάτων Νοσηλευτικής και Ιατρικών Εργαστηρίων επί 6 εξάμηνα σπουδών
- Υπεύθυνη Διπλωματικών Εργασιών τμήματος Νοσηλευτικής ΤΕΙ Λάρισας με τίτλο: «Ο ρόλος της νοσηλεύτριας στην Πρωτοβάθμια Φροντίδα Υγείας» και «Νοσηλευτική και Κοινωνική Ψυχιατρική».
- 2004-2005.: Επιστημονικός συνεργάτης της σχολής ΙΕΚ του ΕΚΑΒ Λάρισας

## ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

1. Μ. Δεληχάς, Ε. Λαβδάς, Π. Αλμπανοπούλου, Β. Ροκά, Κ. Γκαλάπης. «Δόσεις ακτινοβολίας ασθενών σε ειδικές ακτινολογικές εξετάσεις βαριούχου γέυματος και βαριούχου υποκλυσμού.» Ακτινοτεχνολογία 2000.
2. Β. Ροκά, Ε. Κουτσούκου-Χαρτώνα, Μ. Βενιζέλος. «Διερεύνηση της καταγραφής ενός λοιμώδους νοσήματος (βρουκέλλωση) σε έναν νομό της Κεντρικής Ελλάδας.» Πρωτοβάθμια Φροντίδα Υγείας, Τόμος 14, Τεύχος 2, 56-61, 2002. ( Επαινεθείσα εργασία 14<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Γενικής Ιατρικής , Κρήτη 2002).
3. Germenis AE, Yiannaki E, Zachou K, Roka V, Barbanis S, Liaskos C, Adam K, Kapsoritakis A, Potamianos S, Dalekos G. **Prevalence and Clinical Significance of Immunoglobulin A Antibodies against Tissue Transglutaminase in Patients with Diverse Chronic Liver Disease.** Clin Diagn Lab Immunol 2005,12:941-48.

## ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΕΣ ΕΡΓΑΣΙΕΣ – ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΚΑΙ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

1. Β. Ροκά, Ε. Γιαννάκη, Δ. Νικούλης, Χ. Ρίζος, Γ. Κουκούλης, Σ. Ποταμιάνος, Α.Ε. Γερμενής. « **Επιπολασμός λανθάνουσας κοιλιοκάκης σε τυχαιοποιημένο δείγμα ενήλικου Θεσσαλικού πληθυσμού.**» Πανελλήνιο Συνέδριο Ανοσολογίας , Θεσσαλονίκη 2004.
2. Ε. Γιαννάκη, Π. Ζάχου, Β. Ροκά Γ. Κουκούλης, Σ. Ποταμιάνος, Κ. Αδάμ, Γ.Ν. Νταλέκος, Α.Ε. Γερμενής. «**Επιπολασμός κοιλιοκάκης και συχνότητα αντισωμάτων έναντι της ιστικής διαγλουταμινάσης ( tTG ) σε ασθενείς με χρόνιες ηπατοπάθειες.**» Πανελλήνιο Συνέδριο Ανοσολογίας , Θεσσαλονίκη 2004.
3. V. Roka, E. Yiannaki, D. Nikoulis, G. Koukoulis, S. Potamianos, A.E. Germenis.. «**Prevalence of silent/subclinical celiac disease in Greece.**» 11<sup>th</sup>

Conference of the European Society of GENERAL PRACTICE/FAMILY MEDICINE, Kos Island, Greece, September 3-7, 2005.

4. D.Koumarianos, E. Lavdas, K. Vassiou, V. Roka, I. Fezoulidis. «MR Cholangiopangreatography: Comperison Between Single-Section (2D0 TSE, Multi-Section SSTSE and 3D TSE with Respiratory Triggering». 1<sup>st</sup> Euro-Mediterranean Congress for Radiographers, Malta, September 7-11, 2005.



## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

### Πρόλογος

<b>ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....</b>	<b>1</b>
1.ΓΕΝΙΚΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΟΙΛΙΟΚΑΚΗ.....	3
1.1.ΟΡΙΣΜΟΙ.....	4
1.2.ΟΙ ΠΡΩΤΕΣ ΠΕΡΙΓΡΑΦΕΣ ΚΑΙ Η ΣΥΓΧΡΟΝΗ ΑΝΤΙΛΗΨΗ ΤΗΣ ΚΟΙΛΙΟΚΑΚΗΣ.....	5
1.3.ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ.....	7
1.3.1. ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ.....	7
1.3.2. ΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ.....	11
Α. Συσχέτιση με τα HLA τάξης II γονίδια.....	11
Β. Ενεργοποίηση των DQ καθοριζόμενων βλεννογονικών T κυττάρων .....	14
1.3.3. ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ.....	16
Α. Η γλουτένη και η φυσική ανοσία.....	19
Β. Η γλουτένη και η επίκτητη ανοσολογική απόκριση.....	23
Γ. Ο ρόλος των ενδοεπιθηλιακών λεμφοκυττάρων.....	23
1.3.4. ΕΠΙΜΕΡΟΥΣ ΘΕΜΑΤΑ ΤΗΣ ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑΣ.....	25
Α. Ο ρόλος της ζονουλίνης.....	25
Β. Διαφορές από την αλλεργία.....	27
Γ. Η ιστική τρανσγλουταμινάση.....	27
2.ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ ΚΑΙ ΜΟΡΦΕΣ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ.....	29
2.1. ΕΚΔΗΛΩΣΗ ΣΤΑ ΠΑΙΔΙΑ.....	29
2.2. ΕΚΔΗΛΩΣΗ ΣΤΟΥΣ ΕΝΗΛΙΚΕΣ.....	30
2.3. ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ.....	31
2.4. ΕΞΩΕΝΤΕΡΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ.....	33
2.4.1 ΑΝΑΙΜΙΑ ΚΑΙ ΚΟΙΛΙΟΚΑΚΗ.....	33
2.4.2 ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗ ΚΑΙ ΚΟΙΛΙΟΚΑΚΗ.....	34
2.4.3 ΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΚΟΙΛΙΟΚΑΚΗ.....	35
2.4.4 ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ.....	35

2.5. ΦΥΣΙΚΑ ΣΗΜΕΙΑ.....	37
2.6. ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΜΟΡΦΕΣ.....	39
2.7. ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΕΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ.....	40
2.7.1. ΕΡΠΗΤΟΕΙΔΗΣ ΔΕΡΜΑΤΙΤΙΔΑ.....	42
2.7.2. ΑΥΤΟΑΝΟΣΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΚΟΙΛΙΟΚΑΚΗ... ..	43
2.8. ΕΠΙΜΟΝΕΣ ΣΤΗ ΔΙΑΙΤΑ ΜΟΡΦΕΣ ΚΑΙ ΕΠΙΠΛΟΚΕΣ.....	44
2.8.1. ΑΝΘΕΚΤΙΚΗ ΚΟΙΛΙΟΚΑΚΗ.....	45
2.8.2. Τ-ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΛΕΜΦΩΜΑ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΕΤΑΙ ΜΕ ΕΝΤΕΡΟΠΑΘΕΙΑ.....	46
2.8.3. ΚΑΚΟΗΘΕΙΣ ΠΑΘΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΚΟΙΛΙΟΚΑΚΗ... ..	47
2.8.4. ΚΑΛΟΗΘΗ ΕΛΚΗ ΚΑΙ ΣΤΕΝΩΣΕΙΣ ΤΟΥ ΛΕΠΤΟΥ ΕΝΤΕΡΟΥ.....	47
2.8.5. ΚΟΛΛΑΓΟΝΩΔΕΣ SPRUE.....	48
 3. ΔΙΑΓΝΩΣΗ.....	49
3.1. ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ.....	49
3.2. ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ.....	50
3.3. ΕΞΕΤΑΣΗ ΚΟΠΡΑΝΩΝ.....	51
3.4. ΔΟΚΙΜΑΣΙΕΣ ΑΝΑΠΝΟΗΣ.....	52
3.5. ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ D-ΕΥΛΟΖΗΣ.....	52
3.6. ΒΙΟΨΙΑ ΤΟΥ ΛΕΠΤΟΥ ΕΝΤΕΡΟΥ.....	53
3.6.1. ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΗΣ ΒΛΑΒΗΣ ΚΑΤΑ MARSH.....	55
3.6.2. ΤΑ ΣΤΑΔΙΑ I ΚΑΙ II ΚΑΤΑ MARSH.....	56
3.6.3. ΕΠΑΝΑΛΗΠΤΙΚΗ ΒΙΟΨΙΑ ΚΑΙ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΠΡΟΚΛΗΣΗΣ ΜΕ ΓΛΟΥΤΕΝΗ.....	57
3.6.4. ΔΙΑΦΟΡΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΗΣ ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗΣ ΒΛΑΒΗΣ.....	58
3.6.5. ΒΙΟΨΙΑ ΜΕ ΚΑΨΟΥΛΑ.....	58
3.7. ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ.....	59
3.8. ΟΡΟΛΟΓΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ.....	59
3.8.1. ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΕΝΑΝΤΙ ΡΕΤΙΚΟΥΛΙΝΗΣ.....	59
3.8.2. ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΕΝΑΝΤΙ ΕΝΔΟΜΥΙΟΥ.....	60
3.8.3. ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΕΝΑΝΤΙ ΓΛΟΙΑΔΙΝΗΣ.....	60
3.8.4. ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΕΝΑΝΤΙ ΙΣΤΙΚΗΣ ΤΡΑΝΣΓΛΟΥΤΑΜΙΝΑΣΗΣ.....	61
3.8.5. ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΚΑΙ ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΟΡΟΛΟΓΙΚΩΝ ΔΟΚΙΜΑΣΙΩΝ.....	62
3.8.6. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΟΡΟΛΟΓΙΚΩΝ ΔΟΚΙΜΑΣΙΩΝ ΣΤΗ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΚΟΙΛΙΟΚΑΚΗ... ..	66
3.9. ΗΛΑ ΤΥΠΟΠΟΙΗΣΗ.....	68

4.ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ.....	69
4.1. ΕΠΙΠΤΩΣΗ ΚΑΙ ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ.....	69
4.2. ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΤΩΝ ΜΕΛΕΤΩΝ ΣΥΧΝΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ.....	69
4.3 ΟΙ ΝΕΩΤΕΡΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ ΣΕ ΔΥΤΙΚΗ ΕΥΡΩΠΗ ΚΑΙ ΒΟΡΕΙΑ ΑΜΕΡΙΚΗ.....	71

## **ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....75**

1.ΥΛΙΚΟ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	76
1.1. ΕΠΙΛΟΓΗ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ.....	76
1.2. ΔΗΜΟΓΡΑΦΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	77
2.ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΟΜΑΔΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ.....	78
2.1. ΑΝΟΣΟΝΕΦΕΛΟΜΕΤΡΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΟΛΙΚΗΣ IGA ΤΟΥ ΟΡΟΥ.....	80
2.2. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ IGA ΚΑΙ IGG ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΕΝΑΝΤΙ ΤΗΣ ΙΣΤΙΚΗΣ ΤΡΑΝΣΓΛΟΥΤΑΜΙΝΑΣΗΣ.....	80
2.2.1. ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ.....	80
2.2.2. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ.....	81
2.2.3. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ.....	81
2.2.4. ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ.....	82
2.2.5. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ.....	82
2.3. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ IGG ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΕΝΑΝΤΙ ΓΛΟΙΑΔΙΝΗΣ.....	83
2.5. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ IGA ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΕΝΑΝΤΙ ΕΝΔΟΜΥΙΟΥ.....	84
2.6. HLA-ΤΥΠΟΠΟΙΗΣΗ.....	84
2.7.ΒΙΟΨΙΑ ΛΕΠΤΟΥ ΕΝΤΕΡΟΥ.....	85
2.7.1. ΠΑΘΟΛΟΓΟΑΝΑΤΟΜΙΚΗ-ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ.....	85
3.ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	86
4.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	87
4.1. ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΚΟΙΛΙΟΚΑΚΗΣ ΣΤΟΝ ΕΝΗΛΙΚΑ ΠΛΗΘΥΣΜΟ ΤΗΣ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ.....	87
4.2. ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ.....	87
4.3. ΠΑΡΟΥΣΙΑ IGA ΚΑΙ IGG ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΕΝΑΝΤΙ ΙΣΤΙΚΗΣ ΤΡΑΝΣΓΛΟΥΤΑΜΙΝΑΣΗΣ ΣΕ ΜΗ ΑΣΘΕΝΕΙΣ.....	91
4.4. ΤΑ ΣΥΝΟΛΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	93
5.ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	95

## **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ..... 109**

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ..... 124

SUMMARY AND CONCLUSIONS.....127

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η κοιλιοκάκη αποτελεί πρότυπο αυτοάνοσου νοσήματος καθώς είναι γνωστά: (α) το εξωγενές έναυσμα, τα πεπτίδια γλουτένης του σιτάλευρου και των ανάλογων αλκοολοδιαλυτών πρωτεϊνών του κριθαριού και της σίκαλης, (β) η αυτοάνοση βάση, έχει αναγνωριστεί το αυτοαντιγόνο ιστική τρανσγλουταμινάση και (γ) το κληρονομικό υπόστρωμα της νόσου, τα αλληλίου HLA-DQ2 ή -DQ8.

Παλιότερα η κοιλιοκάκη είχε θεωρηθεί ως μια κατ' εξοχήν νόσος της παιδικής ηλικίας, που ήταν μάλλον σπάνια καθώς ο επιπολασμός της ήταν της τάξης του 1:10.000. Επίσης περιγράφονταν ως αποκλειστικά νόσος του πεπτικού συστήματος με κλινική εκδήλωση συνδρόμου δυσαπορρόφησης.

Η διάγνωση επίσης μέχρι πρόσφατα βασίζονταν, εκτός από τη βιοψία του λεπτού εντέρου, στην ανίχνευση αντισωμάτων έναντι της ρετικουλίνης, της γλοιαδίνης και του ενδομυίου. Από αυτές τις δοκιμασίες η τελευταία είναι η περισσότερο ευαίσθητη και ειδική, ωστόσο και αυτή έχει τα μειονεκτήματα μιας δοκιμασίας εμμέσου ανοσοφθορισμού, είναι δηλαδή υποκειμενική, επίπονη και χρονοβόρα και επομένως η χρησιμοποίησή της σε ένα πρόγραμμα ομαδικού ελέγχου ήταν μάλλον προβληματική.

Αυτό που άλλαξε το τοπίο τόσο ως προς τη συχνότητα της κοιλιοκάκης όσο και ως προς την κατανόηση των κλινικών μορφών της νόσου ήταν η ανακάλυψη ότι το αυτοαντιγόνο που αναγνωρίζεται από τα αντισώματα έναντι του ενδομυίου είναι η ιστική τρανσγλουταμινάση. Τα αντισώματα έναντι της ιστικής τρανσγλουταμινάσης ανιχνεύονται με τη μέθοδο της ELISA, που είναι προτυποποιημένη και αντικειμενική και επέτρεψε να γίνουν ομαδικοί έλεγχοι (screening) του γενικού πληθυσμού. Οι μελέτες αυτές έδειξαν ότι η συχνότητα της κοιλιοκάκης στις ευρωπαϊκές χώρες και στις ΗΠΑ προσεγγίζει το 1:100. Έγινε επίσης γνωστό ότι, η κοιλιοκάκη δεν εκδηλώνεται μόνο κατά την παιδική ηλικία καθώς και ότι δεν περιορίζεται σε συμπτώματα μόνο από το πεπτικό σύστημα, αλλά είναι μια κλινικά πολύπλοκη νόσος, με συγκεκριμένο γενετικό υπόστρωμα, της οποίας η έγκαιρη διάγνωση και θεραπεία, με δίαιτα ελεύθερη γλουτένης, προλαμβάνουν σοβαρές επιπλοκές και μειώνουν τη νοσηρότητα.

Ενέκυψε, λοιπόν, το ερώτημα για την ανάγκη μαζικού ομαδικού ελέγχου για την κοιλιοκάκη. Σύμφωνα με τον ΠΟΥ τα κριτήρια για την

εφαρμογή προγραμμάτων μαζικού ομαδικού ελέγχου είναι τα ακόλουθα: (α) η πρώιμη ανίχνευση της νόσου πρέπει να είναι δύσκολη σε κλινική βάση, (β) η νόσος πρέπει να είναι συχνή και να προκαλεί σημαντική νοσηρότητα στον γενικό πληθυσμό, (γ) πρέπει να υπάρχει διαγνωστική δοκιμασία απλή, φθηνή, υψηλής ευαισθησίας και ειδικότητας, που να μπορεί να εφαρμοστεί σε μεγάλους πληθυσμούς, (δ) πρέπει να υπάρχει θεραπεία, και (ε) εάν η νόσος δεν αναγνωριστεί θα πρέπει να οδηγεί σε σοβαρές επιπλοκές. Η κοιλιοκάκη φαίνεται να πληροί αυτά τα κριτήρια, ωστόσο υπάρχει και αντίλογος καθώς (α) δεν υπάρχουν επαρκείς αποδείξεις ότι ο ομαδικός έλεγχος του γενικού πληθυσμού θα οδηγήσει σε μείωση της νοσηρότητας, (β) δεν υπάρχουν αποδείξεις ότι η υιοθέτηση της δίαιτας ελεύθερης γλουτένης από τα ασυμπτωματικά άτομα θα οδηγήσει σε μείωση της θνητότητας, (γ) οι ασυμπτωματικοί ασθενείς που έχουν ανιχνευθεί μετά από ομαδικό έλεγχο συνήθως δείχνουν χαμηλή συμμόρφωση στη δίαιτα ελεύθερη γλουτένης, και (δ) δεν υπάρχουν αποδείξεις ότι ο ομαδικός έλεγχος για την κοιλιοκάκη θα έχει καλή σχέση κόστους-οφέλους.

Προς το παρόν, αφενός ομαδικοί έλεγχοι γενικού πληθυσμού για την κοιλιοκάκη πραγματοποιούνται σε πολλές χώρες παγκοσμίως, για να αξιολογηθεί η ανάγκη εφαρμογής ανάλογων προγραμμάτων. Αφετέρου, μέχρις ότου αποσαφηνιστεί η ανάγκη ομαδικού ελέγχου των γενικών πληθυσμών, αναζητάται η καλύτερη επιδημιολογική προσέγγιση για την έγκαιρη ανίχνευση των περιστατικών κοιλιοκάκης. Ο ρόλος των γιατρών της Πρωτοβάθμιας Φροντίδας Υγείας για την αποκάλυψη μεγάλου μέρους του «παγόβουνου της κοιλιοκάκης» φαίνεται να είναι σημαντικός και εκτιμάται η εφαρμογή των κατάλληλων κατευθυντήριων οδηγιών έτσι ώστε η κοιλιοκάκη να μην παραμένει αδιάγνωστη.

Στην Ελλάδα δεν έχει γίνει μέχρι σήμερα ομαδικός έλεγχος γενικού πληθυσμού για την κοιλιοκάκη. Σκοπός της παρούσας μελέτης, ήταν η διενέργεια ενός ορολογικού ομαδικού ελέγχου για την κοιλιοκάκη στον ενήλικα πληθυσμό της Θεσσαλίας, χρησιμοποιώντας έναν αλγόριθμο διερεύνησης που πρόσφατα έχει προταθεί στον οποίο περιλαμβάνεται μια καινούργια ορολογική δοκιμασία, αυτή της ανίχνευσης των αντισωμάτων έναντι της tTG αλλά και η αναζήτηση του συγκεκριμένου γενετικού υποστρώματος των HLA-DQ2.

Στην παρούσα μελέτη ελέγχθηκαν άτομα που ανήκουν στον ενήλικα πληθυσμό της Θεσσαλίας. Ο πληθυσμός της Θεσσαλίας παρουσιάζει: (Α) ιδιόμορφη δημογραφική σύσταση ( μείγμα ντόπιων και πληθυσμών από

μετακίνηση όπως οι Βλάχοι και οι Σαρακατσάνοι) και άρα η γονιδιακή τυποποίηση για τα HLA-DQ αλληλία δεν θα είναι ομοιογενής και (B) ιδιαίτερη διατροφική ταυτότητα, είναι δηλαδή κατ' εξοχήν σιτοκαταναλωτικός.

Η παρούσα διατριβή πραγματοποιήθηκε υπό την καθοδήγηση του Επίκουρου Καθηγητή κου Σπ. Ποταμιάνου, του οποίου οι παρατηρήσεις από το σχεδιασμό μέχρι την ολοκλήρωση της διατριβής ήταν πολύτιμες και του εκφράζω τις ολόθερμες ευχαριστίες μου και την ευγνωμοσύνη μου. Ευχαριστώ επίσης θερμά τον Αν. Καθηγητή κ. Α.Ε. Γερμενή για την υπεύθυνη παρακολούθηση και καθοδήγησή του και την πολύτιμη βοήθειά του σε κάθε στάδιο της εργασίας καθώς το πειραματικό μέρος της μελέτης πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Ανοσολογίας και Ιστοσυμβατότητας του ΠΠΓΝΛ, το οποίο διευθύνει. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω την Επ. Καθηγήτρια κα Ε. Πετεινάκη, για τις συμβουλές της και την αμέριστη συμπαράστασή της. Γενικότερα θα ήθελα να ευχαριστήσω και τα τρία μέλη της συμβουλευτικής επιτροπής για την συνεχή, πολύπλευρη και ακούραστη προσφορά τους.

Οφείλω επίσης μεγάλη ευγνωμοσύνη στους Ιατρούς και συνεργάτες του Εργαστηρίου Ανοσολογίας και Ιστοσυμβατότητας του ΠΠΓΝΛ. Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω τη Βιολόγο του Εργαστηρίου κα Ε. Γιαννάκη για τις παρατηρήσεις, την συνεχή υποστήριξή της και η συμβολή της στην επεξεργασία των δειγμάτων αίματος, καθώς και τον παρασκευαστή του εργαστηρίου κο Δ. Νικούλη.

Ευχαριστώ το σύζυγό μου για τη συμπαράστασή του και την κόρη μου για την κατανόησή της για το χρόνο που της στέρησα.

# **A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**





## 1.ΓΕΝΙΚΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΟΙΛΙΟΚΑΚΗ

Η κοιλιοκάκη είναι μια ανοσο-μεσολαβούμενη εντεροπάθεια, που χαρακτηρίζεται από βλάβη του βλεννογόνου του λεπτού εντέρου, η οποία αναπτύσσεται επί συγκεκριμένου γενετικού υποστρώματος, υπό την επίδραση του γλοιαδινικού κλάσματος της γλουτένης του σιταλεύρου και των ανάλογων αλκοολοδιαλυτών πρωτεϊνών ( προλαμίνες) του κριθαριού και της σίκαλης. Η νόσος σχετίζεται με την παρουσία των αλληλίων HLA-DQ2 ή -DQ8, συγκεκριμένα των -DQA1\*0501/DQB1\*0201 και DQA1\*0301/DQB1\*0302 [1]. Κατά την διάρκεια των τελευταίων δύο δεκαετιών, η κλινική εικόνα της νόσου έχει αλλάξει για να συμπεριλάβει και ηπιότερες μορφές και έχει παρατηρηθεί και μια προς πάνω μετατόπιση της ηλικίας διάγνωσης[2]. Παραδοσιακά, οι ενήλικες ασθενείς με κοιλιοκάκη θεωρείται ότι εμφανίζουν συμπτωματολογία από το γαστρεντερικό ενδεικτική δυσασπορρόφησης. Αυτός ο τρόπος παρουσίασης τώρα περιγράφεται ως η κλασσική (τυπική) κοιλιοκάκη [3]. Οι περισσότεροι ασθενείς, ωστόσο, έχουν είτε την άτυπη είτε τη σιωπηλή μορφή της κοιλιοκάκης[4]. Η πολυπλοκότητα της κλινικής εικόνας σχετίζεται με καθυστέρηση στη διάγνωση της νόσου, η συνέχιση δε της καθημερινής κατανάλωσης σιταριού, κριθαριού και σίκαλης οδηγεί σε αυξημένη νοσηρότητα και κίνδυνο εκδήλωσης κακοηθών νοσημάτων[5]. Μέχρι πρόσφατα η κοιλιοκάκη εθεωρείτο ένα εξαιρετικά σπάνιο νόσημα (1:8000). Σήμερα, η χρησιμοποίηση των ευαίσθητων και με επεμβατικών ορολογικών δοκιμασιών [6,7,8,9], έκανε δυνατή την πραγματοποίηση μεγάλων μελετών ομαδικού ελέγχου (screening) του γενικού πληθυσμού. Βάσει αυτών των μελετών η συχνότητά της κοιλιοκάκης στις ευρωπαϊκές χώρες και στις ΗΠΑ υπολογίζεται σε 0,4-1,1% [10,11,12]. Αναφορικά με τη συχνότητα της νόσου στην Ελλάδα, υπάρχει μια μόνο εργασία που στηρίζεται σε αναδρομικό έλεγχο ενδοσκοπικού υλικού και την ανεβάζει σε ποσοστό 1:520 [13].

### 1.1. ΟΡΙΣΜΟΙ

Η κοιλιοκάκη χαρακτηρίζεται από:

-δυσασπορρόφηση θρεπτικών ουσιών από το λεπτό έντερο, που αναπτύσσεται μετά από την κατανάλωση της γλουτένης του σιτάλευρου ή των ανάλογων πρωτεϊνών της σίκαλης και του κριθαριού

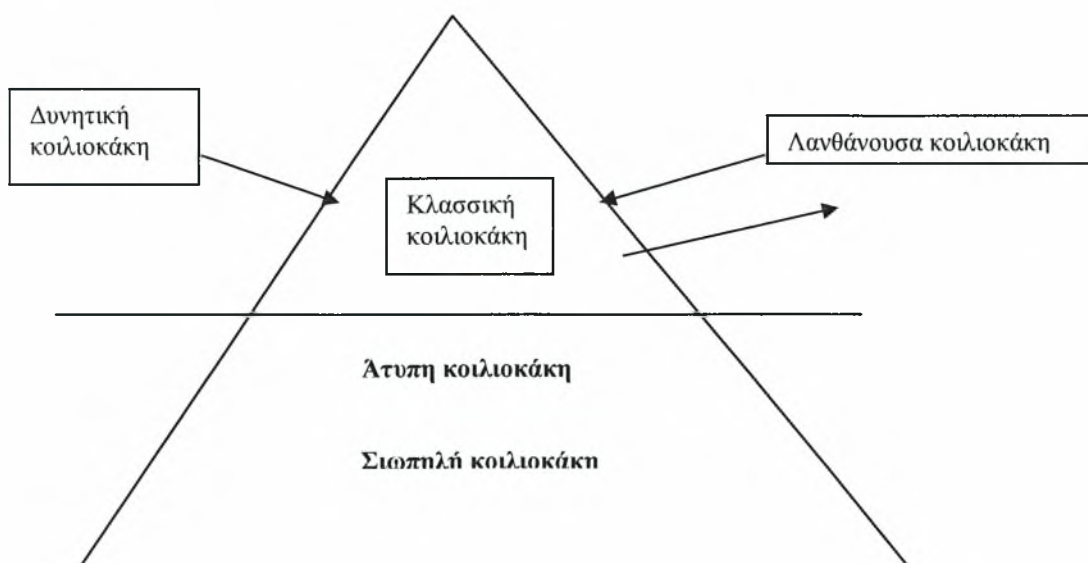
-μια χαρακτηριστική, αλλά όχι ειδική ατροφία των λαχνών του βλεννογόνου του λεπτού εντέρου

-κλινική και ιστολογική βελτίωση μετά από αυστηρή δίαιτα ελεύθερη γλουτένης

-και κλινική υποτροπή όταν η γλουτένη επανεισάγεται [14,15].

Στο φάσμα της κοιλιοκάκης περιλαμβάνεται η τυπική ή κλασσική κοιλιοκάκη ( πλήρως εκφρασμένη εντεροπάθεια εκ γλουτένης που βρίσκεται σε συνδυασμό με τα κλασσικά χαρακτηριστικά της δυσασπορρόφησης) αλλά και η άτυπη κοιλιοκάκη (πλήρως εκφρασμένη εντεροπάθεια εκ γλουτένης που βρίσκεται σε συνδυασμό με άτυπες εκδηλώσεις όπως το χαμηλό ανάστημα, η αναιμία, και η υπογονιμότητα) και η σιωπηλή κοιλιοκάκη (πλήρως εκφρασμένη εντεροπάθεια εκ γλουτένης που βρίσκεται μετά από ορολογικό προληπτικό έλεγχο σε ασυμπτωματικούς ασθενείς). Η πλειοψηφία μάλιστα των ασθενών με κοιλιοκάκη ανήκουν είτε στην άτυπη είτε στη σιωπηλή μορφή της νόσου. ( Εικόνα 1 )

**Εικόνα 1.** Το παγόβουνο της κοιλιοκάκης και το φάσμα των κλινικών μορφών της [16].



Ένας συνδυασμός ορολογικών, γενετικών, και ιστολογικών δεδομένων έχει επίσης οδηγήσει στην αναγνώριση δύο ακόμη μορφών κοιλιόκακης. Ο όρος λανθάνουσα κοιλιόκακη αναφέρεται σε ασθενείς που έχουν φυσιολογική αρχιτεκτονική λαχνών ενώ ακολουθούν μια δίαιτα που περιλαμβάνει γλουτένη, αλλά στους οποίους αναπτύσσεται αργότερα ατροφία εντερικών λαχνών συμβατή με κοιλιόκακη. Δύο υποκατηγορίες της λανθάνουσας κοιλιόκακης έχουν αναγνωριστεί. Στην πρώτη, η κοιλιόκακη προϋπήρχε, συχνά κατά τη παιδική ηλικία, ο ασθενής ανένηψε τελείως με μια δίαιτα ελεύθερη γλουτένης, όμως η νόσος παρέμεινε 'λανθάνουσα' ακόμα και όταν υιοθετήθηκε δίαιτα γλουτένης. Στην δεύτερη, ένας φυσιολογικός βλεννογόνος είχε διαγνωστεί σε κάποια προηγούμενη περίπτωση ενώ ο ασθενής κατανάλωνε γλουτένη στα πλαίσια μιας φυσιολογικής δίαιτας, όμως η κοιλιόκακη αναπτύχθηκε αργότερα. Η δυνητική κοιλιόκακη αναφέρεται σε ασθενείς που ποτέ δεν είχαν μια βιοψία λεπτού εντέρου συμβατή με κοιλιόκακη, που όμως παρουσιάζουν ανοσολογικές διαταραχές χαρακτηριστικές της νόσου, όπως θετικά αντισώματα IgA έναντι του ενδομυίου ή αυξημένα ενδοεπιθηλιακά λεμφοκύτταρα στο λεπτό έντερο. Αυτοί οι ασθενείς έχουν συχνά γενετική προδιάθεση για την κοιλιόκακη, ειδικά τον απλότυπο HLA-DQ2, ή έχουν πρώτου βαθμού συγγενή με κοιλιόκακη, και η πιθανότητά τους να αναπτύξουν κοιλιόκακη μπορεί να είναι τόσο υψηλή όσο 50%[17].

## **1.2. ΟΙ ΠΡΩΤΕΣ ΠΕΡΙΓΡΑΦΕΣ ΚΑΙ Η ΣΥΓΧΡΟΝΗ ΑΝΤΙΛΗΨΗ ΤΗΣ ΚΟΙΛΙΟΚΑΚΗΣ**

Η κοιλιόκακη ήταν γνωστή στους Ρωμαίους, και το όνομά της προέρχεται από μια περιγραφή του Αρεταίου του Καπαδόκη, τον 2<sup>ο</sup> αιώνα π.Χ. Ο Αρεταίος είχε παρατηρήσει ότι η κατάσταση αυτή σχετίζονταν με διογκωμένη κοιλιά, εξ' ου και το όνομα κοιλιόκακη, προερχόμενη από τη λέξη 'coelom' που σημαίνει σπλαχνική κοιλότητα. Η κατάσταση, ωστόσο έχει περιγραφεί επίσημα – τυπικά για πρώτη φορά από τον Samuel Gee το έτος 1888 σε κείμενό του στα αρχεία του Νοσοκομείου St. Bartholomew. Αυτός περιέγραψε τη νόσο ως μια κατάσταση φθοράς ( καταβολής, απίσχνανσης ), η οποία κατά κύριο

λόγο προσβάλει τα παιδιά, χαρακτηρίζεται από διάρροιες οδηγώντας σε απώλεια βάρους, διαταραχές θρέψης και τελικά στον θάνατο[18]. Την εποχή εκείνη η συγκεκριμένη διαταραχή είχε θνητότητα περίπου 20%. Ο Samuel Gee είχε αναφέρει ότι η κατάσταση πρέπει να θεραπεύεται μέσω της διατροφής, και πράγματι είχε παρατηρήσει ότι ένα παιδί ανέκτησε βάρος τρεφόμενο αποκλειστικά με μύδια. Ωστόσο, το παιδί ανέφερε ότι θα προτιμούσε να πεθάνει παρά να συνεχίσει να τρώει μύδια εφ' όρου ζωής.

Μόλις στα μέσα του 20<sup>ου</sup> αιώνα ο Ολλανδός παιδίατρος Dicke περιέγραψε την συσχέτιση μεταξύ συγκεκριμένων δημητριακών και της κοιλιοκάκης. Ο Dicke είχε πειστεί ότι η κατανάλωση ψωμιού και σιτάλευρου ευθυνόταν για την επιδείνωση των ασθενών με αυτήν την κατάσταση[19]. Κατά τη διάρκεια του 2<sup>ου</sup> Παγκοσμίου Πολέμου στην Ολλανδία τα δημητριακά που συνήθως χρησιμοποιούνται για την παρασκευή ψωμιού παρουσίασαν έλλειψη. Κατά την περίοδο αυτή τα παιδιά που έπασχαν από κοιλιοκάκη βελτιώθηκαν, μόνο για να υποτροπιάσουν μετά από την επάρκεια του σιτάλευρου μετά το τέλος του πολέμου. Αυτή η παρατήρηση οδήγησε στην διαπίστωση ότι το σιτάρι επιδεινώνει τους ασθενείς με κοιλιοκάκη. Μετέπειτα εργασίες του Dicke και των συνεργατών του [20] επέδειξαν ότι το αλκοολοδιαλυτό κλάσμα ή η γλουτένη του σιταριού προκαλούσε την δυσασπορρόφηση στους ασθενείς με κοιλιοκάκη. Το 1954, ο Paulley [21] έδωσε την πρώτη ακριβή περιγραφή της χαρακτηριστικής εντερικής βλάβης των ασθενών με κοιλιοκάκη. Με την ανάπτυξη των από του στόματος εργαλείων ενδοσκόπησης και βιοψίας στα τέλη του 1950, οι Rubin και συν. [22] απέδειξαν ότι η κοιλιοκάκη των παιδιών και το ιδιοπαθές ή μη τροπικό sprue των ενηλίκων ήταν ταυτόσημα νοσήματα με τα ίδια κλινικά και παθολογικά χαρακτηριστικά.

Τα τελευταία 15 χρόνια έχουν γίνει σημαντικές πρόοδοι στην κατανόηση των γενετικών, ανοσολογικών και των μοριακών μηχανισμών που είναι βασικοί στην παθογένεια της κοιλιοκάκης. Το έτος 1986, οι Howell και συν. [23] παρατήρησαν ότι η κοιλιοκάκη σχετίζεται με συγκεκριμένους HLA τάξης II DQ απλοτύπους. Το 1993, οι Lundin και συν. [24] απέδειξαν ότι τα προϊόντα του γονιδίου DQ, κατά προτίμηση παρουσιάζουν πεπτίδια γλοιαδίνης προερχόμενα από γλουτένη, στα T κύτταρα του εντερικού βλεννογόνου, στους ασθενείς με κοιλιοκάκη. Πιο πρόσφατα, η έρευνα για το 'αυτοαντιγόνο της κοιλιοκάκης' έχει εστιαστεί στο ένζυμο ιστική τρανσγλουταμινάση ( tTG ) και έχει

οδηγήσει στην ανάπτυξη περισσότερο αξιόπιστων ορολογικών διαγνωστικών δοκιμασιών [8]. Το 1998, οι Molberg και συν. [25] ανέφεραν ότι η τροποποίηση από την ιστική τρανσγλουαμινάση της γλοιαδίνης ενισχύει την απόκριση των ειδικών για την γλοιαδίνη T κυττάρων. Η πρόσφατη αναγνώριση ενός μόνου τροποποιημένου από την ιστική τρανσγλουταμινάση πεπτιδίου ως του επικρατούντος επιτόπου α-γλοιαδίνης για τα T κύτταρα, έχει επισημάνει τον κεντρικό ρόλο της ιστικής τρανσγλουταμινάσης στην παθογένεια της κοιλιοκάκης [26].

Η κοιλιοκάκη αποτελεί ένα μοναδικό και προνομιούχο μοντέλο αυτοανόσου νοσήματος καθώς είναι γνωστά το εξωγενές έναυσμα, τα πεπτίδια γλουτένης [27], το αυτοαντιγόνο, το πανταχού παρόν ένζυμο η ιστική τρανσγλουταμινάση [8] καθώς και το κληρονομικό υπόστρωμα της νόσου ( HLA DQ2-DQ8 ).

### **1.3. ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ**

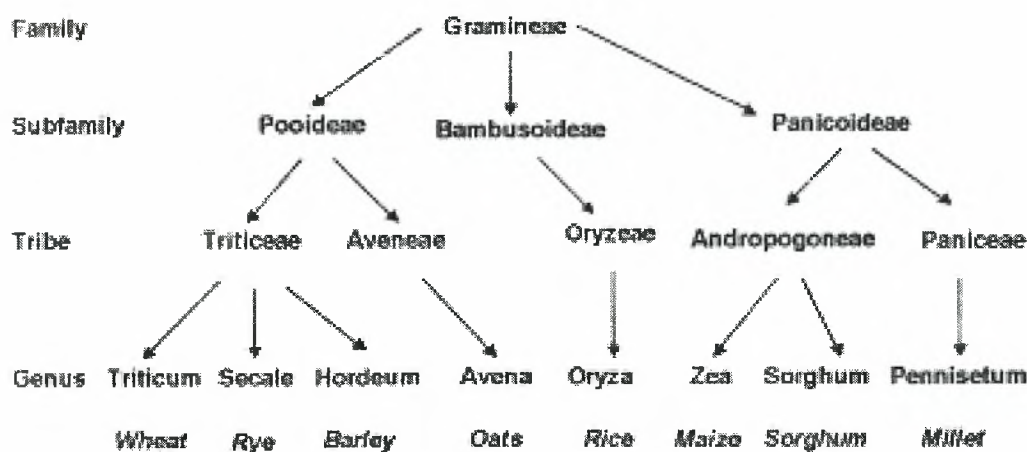
Η κοιλιοκάκη είναι τύπος χρόνιας φλεγμονώδους νόσου.

Περιβαλλοντικοί, γενετικοί και ανοσολογικοί παράγοντες είναι σημαντικοί στην παθογένεια της [28,29,30,31,32].

#### **1.3.1. ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ**

Οι πρωτεΐνες των δημητριακών σιτάρι, σίκαλη και κριθάρι είναι οι κυριότεροι γνωστοί περιβαλλοντικοί παράγοντες που είναι υπεύθυνοι για την ενεργοποίηση της νόσου. Οι πρωτεΐνες αυτές όσον αφορά το σιτάρι ταξινομούνται σε τέσσερις τάξεις ανάλογα με τη διαλυτότητά τους, τις αλβουμίνες που είναι διαλυτές στο νερό, τις γλομπουλίνες διαλυτές σε αλατούχο διάλυμα, τις γλοιαδίνες διαλυτές σε αλκοολικό διάλυμα, και τις γλουτενίνες αδιάλυτες σε ουδέτερο υγρό ή αλατούχο διάλυμα και αιθανόλη αλλά ιδιαιτέρως διαλυτές σε όξινα ή αλκαλικά διαλύματα. Ο όρος γλουτένη, περικλείει τις γλοιαδίνες και τις γλουτενίνες. Στη γλουτένη αποδίδονται οι ιδιότητες ψισίματος του σιταριού που εξαρτώνται από την ικανότητα της να παγιδεύει διοξείδιο του άνθρακα μέσα στη ζύμη. Καμία θρεπτική αξία δεν έχει αποδοθεί στη γλουτένη. Συνολικά, οι

αλκοολοδιαλυτές πρωτεΐνες του σιταριού, της σίκαλης και του κριθαριού ονομάζονται προλαμίνες ένας όρος που αντανακλά την υψηλή περιεκτικότητά τους σε συγκεκριμένα αμινοξέα δηλαδή, τη προλίνη και την γλουταμίνη [33,34]. Οι αντίστοιχες πρωτεΐνες στο κριθάρι και στη σίκαλη που προκαλούν τη νόσο ονομάζονται, χορντεΐνες (*hordeins*) και σικαλίνες (*secalins*) [35,36]. Αν και οι περισσότερες μελέτες έχουν γίνει με τις προλαμίνες, πρόσφατα στοιχεία δείχνουν ότι και οι γλουτενίνες μπορούν να προκαλέσουν κοιλιοκάκη [37]. Το σιτάρι, η σίκαλη και το κριθάρι έχουν μια κοινή καταγωγή στην οικογένεια των φυτών. Η βρώμη, η οποία μόνο σπάνια, έως και καθόλου, ενεργοποιεί την κοιλιοκάκη, και μάλιστα μόνο σε ένα μικρό ποσοστό των ασθενών [38,39], έχει μακρινή μόνο σχέση με το σιτάρι, τη σίκαλη και το κριθάρι, ενώ οι πρωτεΐνες στο ρύζι, στο καλαμπόκι και στο κεχρί δεν προκαλούν κοιλιοκάκη (Εικόνα 2) [35,36].



Εικόνα 2. Ταξινόμηση μερικών διαιτητικών δημητριακών. Το σιτάρι, η σίκαλη και το κριθάρι, τα οποία περιέχουν γλουτένη, σικαλίνη και χορντεΐνη, αντίστοιχα, προέρχονται από την τάξη *Triticeae* της οικογένειας *Gramineae*. Αντιθέτως, η βρώμη, η οποία περιέχει λίγες πρωτεΐνες που προκαλούν τη νόσο, έχει πιο μακρινή σχέση όπως και το ρύζι, το καλαμπόκι και το κεχρί [35,36].

Η γλοιαδίνη είναι το πρωτεϊνικό κλάσμα του σιταριού που έχει μελετηθεί εκτενέστερα. Η γλοιαδίνη, είναι ένα εξαιρετικά ετερογενές



μείγμα πρωτεϊνών το οποίο περιλαμβάνει τουλάχιστον 40 συστατικά τα οποία μπορούν να διακριθούν με βάση την ηλεκτροφορητική τους κινητικότητα σε όξινο pH, σε τέσσερις κύριες ομάδες ( δηλ. α-, β-, γ-, και ω- γλοιαδίνες) [40] ή σύμφωνα με την πιο μοντέρνα ταξινόμηση ανάλογα με την N-τελική αλληλουχία αμινοξέων, ονομάζονται ως α-, γ- και ω- τύπου [41].

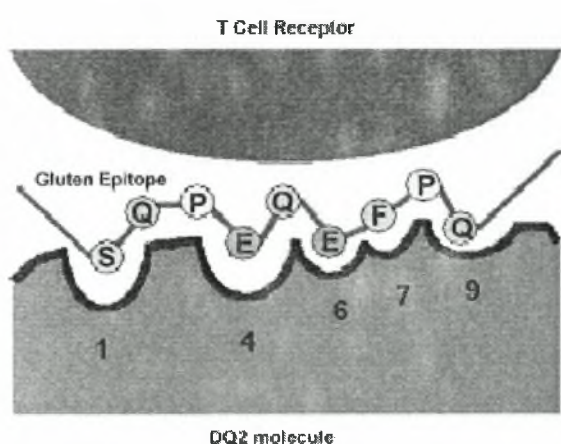
Σύμφωνα με πρόσφατες αντιλήψεις, διαφορετικές πρωτεΐνες γλουτένης εμπλέκονται στη διαδικασία της κοιλιοκάκης με διαφορετικό τρόπο, ώστε μερικά στελέχη να είναι 'τοξικά' και άλλα 'ανοσογόνα'. Ειδικότερα, ένα στέλεχος ορίζεται ως 'τοξικό' εάν είναι ικανό να προκαλέσει βλάβη του βλεννογόνου είτε όταν προστεθεί σε καλλιέργεια υλικού βιοψίας από το βλεννογόνο του δωδεκαδάκτυλου [42], είτε όταν χορηγηθεί *in vivo* στο εγγύς και άπω τμήμα του εντέρου [43,44]. Αντίθετα ένα στέλεχος ορίζεται ως 'ανοσογόνο' εάν είναι ικανό να διεγείρει ειδικά τα HLA-DQ2 [26,45,46,47] ή -DQ8 [34,48,49] καθοριζόμενα T- κύτταρα που προέρχονται είτε από το δωδεκαδακτυλικό βλεννογόνο ή το περιφερικό αίμα των ασθενών με κοιλιοκάκη.

Η υψηλή περιεκτικότητα σε προλίνη καθιστά τις προλαμίνες σχετικά ανθεκτικές στην πρωτεολυτική πέψη από τα γαστρικά και παγκρεατικά ένζυμα του ανθρώπινου εντέρου. Αυτό οδηγεί στην παραγωγή και παρουσία σχετικά μεγάλων πεπτιδίων, με υψηλή περιεκτικότητα σε προλίνη και γλουταμίνη, στο λεπτό έντερο. Ωστόσο αυτό από μόνο του δεν αρκεί για να προκαλέσει τη νόσο καθώς, έως σήμερα, δεν υπάρχει κάποια γνωστή διαφορά στην πέψη των πρωτεϊνών μεταξύ των υγιών και όσων είναι ευπρόσβλητοι στην ανάπτυξη της κοιλιοκάκης. Παρόλο που είναι κατανοητό ότι η αποτυχία διάσπασης αυτών των πρωτεϊνών μπορεί να είναι εντονότερη στο λεπτό έντερο ατόμων με ενεργό νόσο που έχουν σημαντική βλάβη των επιθηλιακών κυττάρων της ψηκτροειδούς παρυφής, όπως και σε αυτούς με συνοδό παγκρεατική ανεπάρκεια. Είναι ενδιαφέρον, ότι προλυλ-ενδοπεπτιδάσες που παράγονται από βακτηρίδια μπορούν να πέψουν αυτά τα πλούσια σε προλίνη πεπτίδια και μάλιστα θεραπεία με αυτά τα ένζυμα έχει προταθεί ως μια πιθανή πρόσθετη θεραπεία στην δίαιτα ελεύθερη γλουτένης [50,51]

Πολλές μελέτες έχουν γίνει για να προσδιοριστούν οι επίτοποι της γλοιαδίνης που πυροδοτούν την κοιλιοκάκη. [34,45,52,53,54,55,56]. Πιο πρόσφατα δυο ερευνητικές ομάδες έχουν



παρουσιάσει αποδείξεις ότι ο ανοσοεπικρατητικός ( immunodominant ) επίτοπος της γλοιαδίνης μπορεί να εντοπίζεται στην περιοχή μεταξύ των αμινοξέων 57-75 των  $\alpha$  - γλοιαδινών [26,46]. Αυτές οι μελέτες έχουν χρησιμοποιήσει T κύτταρα από το περιφερικό αίμα ή μεμονωμένους κλώνους T κυττάρων του λεπτού εντέρου, αντίστοιχα. Το απαιτούμενο μήκος για τη σύνδεση με τα μόρια MHC και την ενεργοποίηση των T κυττάρων είναι αυτό των 10-15 υπολειμμάτων. Τα μόρια HLA-DQ2 δείχνουν μια προτίμηση στην σύνδεση με πεπτίδια γλουτένης που έχουν απαμινωμένα κατάλοιπα αμινοξέων στις θέσεις 4, 6 και 7 της συνδετικής σχισμοειδούς θήκης [57]. ( Εικόνα 3)



Εικόνα 3.

Σχηματική παρουσίαση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ της πεπτιδο-δεσμευτικής θήκης του DQ2 μορίου και ενός επιτόπου από την  $\gamma$ -γλοιαδίνη. Οι θέσεις πρόσδεσης βρίσκονται στα σημεία 1,4,6 και 7. Αρνητικά φορτία προτιμώνται στις θέσεις 4,6 και 7. (E: απαμινωμένο κατάλοιπο γλουταμίνης με παραγωγή γλουταμικού οξέως, Q: γλουταμίνη, P: προλίνη) [57].

Είναι πιθανό ότι ανοσολογικές ομοιότητες ανάμεσα στις πρωτεΐνες της γλοιαδίνης και σε εντερικά παθογόνα μπορεί να εμπλέκονται στην παθογένεια της ανοσολογικής απόκρισης στα αντιγόνα γλουτένης. Αυτή η υπόθεση υποστηρίχθηκε από μια μελέτη στην οποία η ανάλυση της  $\alpha$ -γλοιαδίνης επέδειξε μια περιοχή αμινοξέων που ήταν ομόλογη προς την 54-kDa E1b πρωτεΐνη της κάψας του αδενοϊού 12, υποδηλώνοντας ότι η έκθεση στον ιό ενός επιδεκτικού ατόμου θα μπορούσε να συμμετέχει στην παθογένεια της κοιλιοκάκης [58]. Επιπλέον ασθενείς με κοιλιοκάκη έχει αναφερθεί ότι έχουν σημαντικά υψηλότερο επιπολασμό λοιμώξεων από τον αδενοϊό 12 σε σύγκριση με τους μάρτυρες [59], ένα εύρημα που υποδηλώνει ότι η μοριακή μίμηση μπορεί να εμπλέκεται στην παθογένεια της κοιλιοκάκης.

Ο λόγος που η βρώμη μπορεί να γίνει ανεκτή από τους ασθενείς με κοιλιοκάκη δεν είναι σαφής, επειδή το κλάσμα των προλαμινών της βρώμης περιέχει την ίδια αλληλουχία αμινοξέων (QQQPF) η οποία έχει

δειχθεί να είναι τοξική στην γλοιαδίνη του σταριού [60]. Μια πιθανή ερμηνεία είναι ότι η βρώμη περιέχει ένα σχετικά μικρότερο ποσοστό αυτής της απαμινωμένης προλαμίνης από ότι άλλα δημητριακά που περιέχουν γλουτένη. Αν και το κοινό χαρακτηριστικό των προλαμινών του σιταριού, της σίκαλης και του κριθαριού είναι η υψηλή τους περιεκτικότητα στα αμινοξέα γλουταμίνη ( $>30\%$ ) και προλίνη ( $>15\%$ ), οι προλαμίνες της βρώμης έχουν μέτρια ποσότητα αυτών των αμινοξέων, και οι μη τοξικές προλαμίνες του ρυζιού, του καλαμποκιού και του κεχριού έχουν ακόμη μικρότερη ποσότητα αυτών των αμινοξέων [61]. Μελέτες πρόκλησης με βρώμη σε ασθενείς με κοιλιοκάκη υποδηλώνουν ότι η ανοχή στη βρώμη εξαρτάται τουλάχιστον εν μέρει από το συνολικό ποσό που έχει καταναλωθεί [62]. Κατανάλωση βρώμης μικρότερη από 40-60g/ημέρα από ασθενείς με κοιλιοκάκη σε ύφεση φαίνεται να είναι καλώς ανεχτή, ενώ μια μεγαλύτερη ημερήσια πρόσληψη μπορεί να σχετίζεται με υποτροπή [62].

Μια πενταπλάσια έως δεκαπλάσια επίπτωση της κοιλιοκάκης στα παιδιά από τη Σουηδία σε σύγκριση με τα παιδιά από τη Δανία ( δύο πληθυσμοί με όμοιο γενετικό υπόστρωμα) έχει θεωρηθεί απόδειξη της σημασίας των περιβαλλοντικών παραγόντων στην παθογένεια της κοιλιοκάκης. Μετέπειτα μελέτες βρήκαν έως και 40-πλάσια διαφορά στην συγκέντρωση της γλοιαδίνης στη βρεφική διατροφή των Σουηδών σε σύγκριση με αυτή των Δανών [63]. Αυτό το εύρημα υποδηλώνει ότι η πρόωμη έκθεση του ανώριμου ανοσιακού συστήματος σε σημαντικές ποσότητες της γλοιαδίνης είναι ένας κυρίαρχος συμπαραγόντας για την ανάπτυξη της κοιλιοκάκης.

### **1.3.2. ΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ**

#### **A. Συσχέτιση με τα HLA τάξης II γονίδια**

Ο ρόλος των γενετικών παραγόντων στην παθογένεια της κοιλιοκάκης, αρχικά εκτιμήθηκε από κλινικές παρατηρήσεις που έδειχναν έναν επιπολασμό της τάξης του 5-15% πολλαπλών περιπτώσεων κοιλιοκάκης μέσα σε οικογένειες, όπως επίσης ένα πολύ υψηλό ποσοστό νόσησης 70-75% μεταξύ των μονοωογενών διδύμων [64].

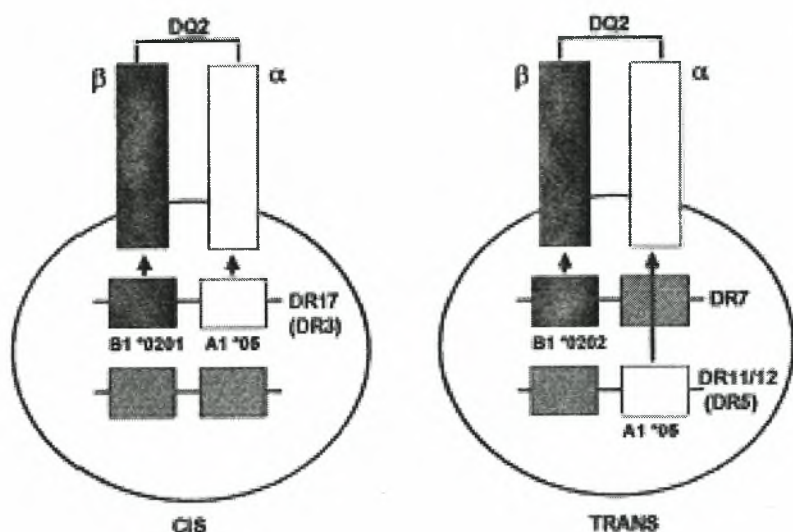
Είναι σαφές ότι η κοιλιοκάκη σχετίζεται ισχυρά με συγκεκριμένα γονίδια HLA τάξης II που εντοπίζονται στον DQ τόπο [65] πάνω στο χρωμόσωμα 6p21.3 [66].

Η παρουσία ειδικών αλληλίων στον HLA-DQ τόπο φαίνεται να είναι απαραίτητη, αν και όχι ικανή, για την φαινοτυπική έκφραση της νόσου σε όλα τα άτομα, με ελάχιστες έως καθόλου εξαιρέσεις [67,68]. Τα HLA-DQ2 ή -DQ8 ετεροδιμερή ( heterodimer) είναι παρόντα σχεδόν σε όλα τα άτομα που έχουν διαγνωσθεί ότι πάσχουν από κοιλιοκάκη. Το DQ2 ετεροδιμερές που παρέχει ευαισθησία για την κοιλιοκάκη σχηματίζεται από μια β - άλυσσο που κωδικοποιείται από το αλληλίο DQB1\*02 (ή DQB1\*0201 ή 0202) και μια α - άλυσσο που κωδικοποιείται από το αλληλίο DQA1\*05. Το DQ2 είναι παρόν στο 90-95% των ασθενών με κοιλιοκάκη [65]. Το HLA-DQ8 - σχετιζόμενο με τη νόσο ετεροδιμερές σχηματίζεται από μια β- άλυσσο και μια α- άλυσσο που κωδικοποιούνται από τα DQB1\*0302 και DQA1\*03 αλληλίου αντίστοιχα, και είναι παρόν στο υπόλοιπο 5-10% των ασθενών [68,69,70].

Τα DQ2 αλληλίου μπορεί να κληρονομηθούν είτε στην cis (π.χ πάνω σε 1 χρωμόσωμα) είτε στην trans μορφή, Ένα DQ αλληλίο προέρχεται από ένα χρωμόσωμα από κάθε γονέα (Εικόνα 4).

Τα άτομα που παλιότερα είχαν τυποποιηθεί ως DR3 ( ή πιο πρόσφατα ως DR17) φέρουν αυτά τα αλληλίου σε cis μορφή, ενώ όσοι έχουν τυποποιηθεί ως ετεροζυγώτες για τους DR5 (που προσφάτως έχουν ονομαστεί DR11 ή DR12) και DR7 φέρουν αυτά τα αλληλίου σε trans μορφή. Ωστόσο, και στις δύο περιπτώσεις, τα σχετικά αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα αυτών των ατόμων εκφράζουν το σχετιζόμενο με τη νόσο DQ2 ετεροδιμερές [71,72]. Στα άτομα που είναι DR3 ομόζυγα, όλα τα DQ μόρια είναι DQ2, ενώ στα άτομα που είναι ετεροζυγώτες των DR3(17)/17, ~ 50% των DQ μορίων τους είναι DQ2, και σε αυτούς που είναι ετεροζυγώτες για τα DR5/7 ή DR3(17)/άλλο, ~25% των μορίων DQ είναι DQ2 [73]. Η κοιλιοκάκη είναι πολύ συχνότερη σε αυτούς των οποίων τα μόρια DQ είναι κατά 100% ή 50% DQ2 από ότι σε αυτούς που έχουν μόνο σε ποσοστό ~25% DQ μόρια του τύπου DQ2 [68,73,74,75]. Οπότε, αν και ίσως μόνο το 2% του πληθυσμού είναι ομόζυγοι για το DR3(DR17) ( δηλαδή, η ομάδα με όλα τα DQ τους αλληλίου του τύπου DQB1\*0201 και DQA1\*0501), αυτή η ομάδα μπορεί να αντιστοιχεί μόνο στο 25% των ασθενών με κοιλιοκάκη. Ωστόσο, εφόσον η κοιλιοκάκη εκδηλωθεί, η κλινική πορεία είναι η

ίδια είτε πρόκειται για ομοζυγώτες DR3(DR17), είτε πρόκειται για ετεροζυγώτες DR3(17)/7, DR5/7, ή DR3(17)/άλλο.



**Εικόνα 4.** Δύο τρόποι κληρονόμησης του DQ2 ετεροδιμερούς που σχετίζεται με την κοιλιοκάκη. DR17 απλότυποι (που παλιότερα ονομαζόταν DR3) φέρουν σε cis μορφή (δηλ. πάνω στο ίδιο χρωμόσωμα) τα αλληλία DQ B1\*0201 που κωδικοποιεί μια β- αλυσίδα και A1\*05 που κωδικοποιεί μια α- αλυσίδα. Οι β- και α- αλυσίδες σχηματίζουν ένα DQ ετεροδιμερές που σχετίζεται με την κοιλιοκάκη. DR7 απλότυποι φέρουν το πολύ συγγενικό αλληλίο DQB1\*0202 σε ένα χρωμόσωμα. Εάν το άλλο χρωμόσωμα φέρει έναν DR11 ή DR12 απλότυπο (που παλιότερα ονομαζόταν DR5) ο οποίος έχει το αλληλίο DQA1\*05, οι β- και α- αλυσίδες που κωδικοποιούνται από αυτά τα αλληλία μπορούν να συζευκτούν στο κύτταρο και να σχηματίσουν το σχετιζόμενο με τη νόσο DQ ετεροδιμερές [71,72].

Είναι σήμερα γνωστό ότι μετά την απορρόφηση της γλουτένης, αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα του χορίου, πιθανόν δενδριτικά κύτταρα που εκφράζουν τα μόρια HLA-DQ2 ή DQ8, παρουσιάζουν τα πεπτίδια γλοιαδίνης στα ευαισθητοποιημένα T λεμφοκύτταρα τα οποία εκφράζουν α/β υποδοχέα του T-κυττάρου (TcR). Αυτά τα λεμφοκύτταρα στη συνέχεια διεγείρουν B λεμφοκύτταρα για να παράγουν ανοσοσφαιρίνες και άλλα T λεμφοκύτταρα για να εκκρίνουν

κυτταροκίνες, κυρίως ιντερφερόνη  $\gamma$  και σε έναν μικρότερο βαθμό ιντερλευκίνη IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, παράγοντα νέκρωσης όγκων (TNF)- $\alpha$  και αυξητικό παράγοντα της βλαστικής μεταμόρφωσης - $\beta$  (TGF- $\beta$ ). Αυτές οι κυτταροκίνες προκαλούν όχι μόνο την καταστροφή των εντεροκυττάρων, αλλά και την έκφραση των HLA τάξης II αντιγόνων κυτταρικής επιφάνειας στην προς τον εντερικό αυλό επιφάνεια των εντεροκυττάρων, διευκολύνοντας πιθανόν την επιπλέον άμεση παρουσίαση αντιγόνων από αυτά τα κύτταρα στα ευαισθητοποιημένα λεμφοκύτταρα [76].

Η κοιλιοκάκη αναπτύσσεται μόνο σε ένα μικρό ποσοστό ατόμων που εκφράζουν τα DQ2. Τα HLA-DQ2 αλληλία είναι συνήθη στους Ευρωπαίους και εκφράζονται στο 25% έως 30% του φυσιολογικού πληθυσμού. Συνεπώς, η εκτιμώμενη HLA συνεισφορά στην ανάπτυξη της κοιλιοκάκης μεταξύ των αδελφών είναι μόνο 36% [77]. Ενδιαφέρουσα, αλλά και σύμφωνη με την γνωστή DQ γενετική της νόσου, είναι η παρατήρηση ότι η κοιλιοκάκη είναι σπάνια στους Ιάπωνες όπου και τα DQ αλληλία που σχετίζονται με τη νόσο είναι επίσης σπάνια στον συγκεκριμένο πληθυσμό.

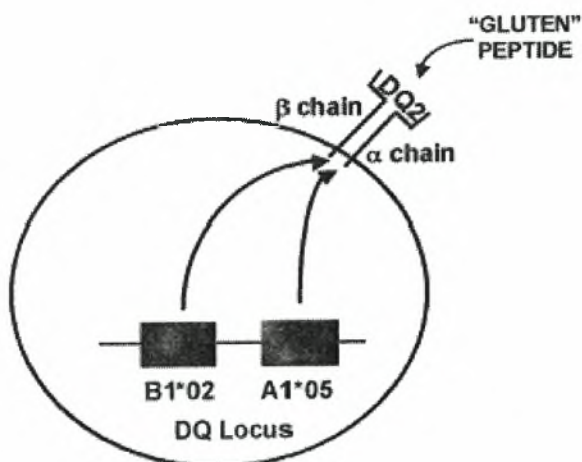
Ενώ η πλειοψηφία των ασθενών με κοιλιοκάκη είναι φορείς των HLA-DQ2 ή DQ8, εκτεταμένες μελέτες γίνονται για τον εντοπισμό και άλλων γονιδίων που να σχετίζονται με την κοιλιοκάκη. Ο μόνος τύπος non-HLA ο οποίος έχει δώσει μαρτυρίες συσχέτισης με την κοιλιοκάκη σε πληθυσμούς είναι η γονιδιακή περιοχή CTLA-4/CD28 πάνω στο χρωμόσωμα 2q33. Συσχέτιση των δεικτών μέσα σ' αυτήν την περιοχή και της κοιλιοκάκης έχειδειχθεί σε πληθυσμούς όπως οι Γάλλοι [78], οι Σουηδοί [79] και οι Φινλανδοί [80]. Μια πρόσφατη μελέτη στην Αγγλία δείχνει επίσης συσχέτιση αυτής της περιοχής με την ευαισθησία για την κοιλιοκάκη [81]. Τα μόρια CD28 και CTLA-4 εκφράζονται πάνω στα λεμφοκύτταρα και έχουν έναν ρυθμιστικό ρόλο στη λειτουργία των λεμφοκυττάρων T. Το μόριο CTLA-4 έχει έναν σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της ανοχής για τα αυτοαντιγόνα. Πράγματι, σοβαρές αυτοάνοσες νόσοι αναπτύσσονται στα ποντίκια με CTLA-4 -ανεπάρκεια [82]. Άλλες συσχετίσεις έχουν αναφερθεί με το χρωμόσωμα 15q26, το οποίο περιέχει και έναν τόπο επιδεκτικότητας για τον σακχαρώδη διαβήτη τύπου I, το χρωμόσωμα 5q και πιθανόν το χρωμόσωμα 11q [83].

## **B. Ενεργοποίηση των DQ καθοριζόμενων βλεννογονικών T κυττάρων**



Πώς τα μόρια HLA-DQ2 ή -DQ8 παίζουν κάποιο ρόλο στην παθογένεια της κοιλιοκάκης; Τα παρακάτω σχόλια αφορούν κυρίως το DQ2 ετεροδιμερές, ωστόσο έχουν εφαρμογή και για το DQ8 ετεροδιμερές.

Τα HLA τάξης II μόρια εκφράζονται πάνω στην επιφάνεια των αντιγόνο-παρουσιαστικών κυττάρων όπου μπορούν να συνδέσουν και ακολούθως παρουσιάσουν «ξένα» πεπτίδια, που συναντούν στο εξωκυττάριο περιβάλλον, στους πληθυσμούς των CD4 T κυττάρων τα οποία και αναγνωρίζουν το σύμπλεγμα DQ2- ή DQ8-πεπτιδίου. Τα πεπτίδια που συνδέονται με τα DQ2 ή DQ8 στην περίπτωση της κοιλιοκάκης θεωρείται ότι είναι τα πλούσια σε γλουταμίνη/προλίνη πεπτίδια που απομένουν μετά την εντερική πέψη της διαιτητικής “γλουτένης” [70,84,85,86,87] (Εικόνα 5).



#### ΑΝΤΙΓΟΝΟ-ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΤΙΚΟ ΚΥΤΤΑΡΟ

Εικόνα 5. Τα DQ2 ετεροδιμερή πάνω στην επιφάνεια των αντιγόνο-παρουσιαστικών κυττάρων συνδέουν τα πεπτίδια ‘γλουτένης’. Τα HLA τάξης II μόρια που εκφράζονται πάνω στην επιφάνεια των αντιγόνο-παρουσιαστικών κυττάρων (π.χ. μακροφάγα, δενδριτικά κύτταρα, B κύτταρα) συνδέουν ξένα πεπτίδια που συναντούν εξωκυττάρια. Τα DQ2 και DQ8 μόρια είναι γνωστόν ότι συνδέουν πεπτίδια ‘γλουτένης’, ειδικότερα εάν αυτά τα πεπτίδια περιέχουν απαμινωμένα κατάλοιπα [87].

Ωστόσο, αυτό το υποθετικό μονοπάτι αποτελούσε ένα αίνιγμα για αρκετά χρόνια επειδή στα πεπτίδια ‘γλουτένης’ γενικώς απουσιάζουν τα αρνητικά φορτισμένα αμινοξέα τα οποία και προτιμώνται για σύνδεση με τα σχετιζόμενα με τη νόσο DQ2 και DQ8 ετεροδιμερή και,

επί απουσίας σύνδεσης, είναι απίθανο να ενεργοποιήσουν τα σχετιζόμενα με τη νόσο CD4 T κύτταρα. Το δίλημμα αυτό διαλευκάνθηκε μετά την ανακάλυψη ότι οι ασθενείς με κοιλιοκάκη έχουν αυτοαντισώματα έναντι της ιστικής τρανσγλουταμινάσης [8]. Οι ερευνητές γρήγορα αναγνώρισαν ότι η ιστική τρανσγλουταμινάση, έναντι της οποίας κατευθύνονται τα αντισώματα, μπορεί να απαμινώσει την γλουταμίνη, μετατρέποντας την στο αρνητικά φορτισμένο γουταμικό οξύ, επιπρόσθετα προς την περισσότερο γνωστή της ιδιότητα της διασταυρούμενης σύνδεσης ( cross-linking) των πρωτεϊνών σχηματίζοντας ισοπεπτιδικούς δεσμούς μεταξύ των καταλοίπων της γλουταμίνης και της λυσίνης [25,88,89]. Άπαξ και ενωθούν με τα μόρια DQ2 ή DQ8, τα συμπλέγματα DQ – πεπτίδιο γλουτένης φαίνεται να ενεργοποιούν τα DQ2 ή DQ8 καθοριζόμενα T κύτταρα, αντιστοίχως, τα οποία απομονώνονται από το βλεννογόνο του λεπτού εντέρου των ασθενών με κοιλιοκάκη. Τα ενεργοποιημένα T κύτταρα έχει βρεθεί ότι παράγουν κύρια Th1 τύπου κυτταροκίνες, με πιο αξιοσημείωτη την γ-ιντερφερόνη. Αξιοσημείωτο είναι, ότι τέτοια T κύτταρα δεν έχουν βρεθεί στον εντερικό βλεννογόνο ατόμων χωρίς κοιλιοκάκη τα οποία ωστόσο, επίσης έχουν το σχετιζόμενο με τη νόσο DQ ετεροδιμερές.

Ένα μοναδικό χαρακτηριστικό των μορίων DQ είναι η παρουσία αρκετών 'εσοχών' οι οποίες ευνοούν τη σύνδεση αρνητικά φορτισμένων καταλοίπων, όπως αυτά που βρίσκονται στο πεπτίδιο γλουτένης όταν η γλουταμίνη απαμινωθεί προς γλουταμικό οξύ. Επιπλέον, τα DQ2 όπως και άλλα MHC τάξης II μόρια, ευνοούν τη σύνδεση πεπτιδίων με αριστερόστροφη πολυπρολινική ελικοειδή διαμόρφωση, η οποία είναι χαρακτηριστική αυτών των πεπτιδίων γλοιαδίνης [90].

### **1.3.3. ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ**

Οι γνώσεις γύρω από την ανοσολογική αναγνώριση της γλουτένης και την επακόλουθη ανοσολογική απόκριση είναι ακόμη ατελείς. Δύο οδοί έχει υποτεθεί ότι διεγείρονται από αυτά τα πεπτίδια : η μία είναι η άμεση επίδραση στο επιθήλιο που εμπλέκεται η εγγενής ανοσολογική απόκριση [91], η άλλη αντιπροσωπεύει την επίκτητη ανοσολογική απόκριση όπου εμπλέκονται τα CD4+ T κύτταρα μέσα στο χόριο που αναγνωρίζουν επεξεργασμένους επιτόπους γλουτένης [61].

Όπως αναφέρθηκε και στην περιγραφή των περιβαλλοντικών παραγόντων που προκαλούν τη νόσο, διαφορετικά πεπτίδια γλουτένης εμπλέκονται στη νόσο με διαφορετικό τρόπο, έτσι ώστε μερικά στελέχη να είναι 'τοξικά' και άλλα 'ανοσογόνα'. Λεπτομερέστερα, όσον αφορά την τοξικότητα, έχειδειχθεί, με τη χρήση *in vitro* καλλιέργειας υλικού βιοψίας από το δωδεκαδάκτυλο, ότι οι α-, β-, γ-, ω- γλοιαδίνες έχουν μειούμενη τοξικότητα και ότι η παρουσία μιας όμοιας N-τελικής αλληλουχίας αμινοξέων στις προλαμίνες του κριθαριού και της σίκαλης υποδεικνύει ότι μια συγκεκριμένη αλληλουχία αμινοξέων πρέπει να αποτελεί τον τοξικό καθοριστή [92,93]. Προσφάτως, ένας μεγάλος αριθμός πεπτιδίων γλοιαδίνης έχουν απομονωθεί και έχουν εξεταστεί για την ανοσογονικότητά τους [24,51,57,94,95,96]. Από τα ανοσογόνα πεπτίδια (ή επίτοποι) που έχουν προσδιοριστεί, είναι αξιοσημείωτο ότι μερικά είναι ανοσοεπικρατητικά, δηλαδή οι επίτοποι αυτοί έχουν την ικανότητα να προκαλέσουν μια ισχυρή απόκριση από τα T κύτταρα. Ένας ανοσοεπικρατητικός επίτοπος πρώτον, προκαλεί μια ειδική απόκριση των T κυττάρων από εντερικές βιοψίες σχεδόν όλων των ασθενών, και δεύτερον, εάν γλουτένη χορηγηθεί σε έναν ασθενή που ακολουθούσε μια δίαιτα ελεύθερη γλουτένης, τα T κύτταρα που διεγείρονται εναντίον των ανοσοεπικρατητικών επιτόπων ανιχνεύονται στο περιφερικό αίμα πολύ νωρίτερα απ' ό τι τα T κύτταρα που διεγείρονται από ανοσογόνους επιτόπους [97]. Επιπροσθέτως, έχει παρατηρηθεί ότι, μερικά πεπτίδια που μπορεί να ταυτοποιήθηκαν ως ανενεργά ή απλά ανοσογόνα στην αρχική τους μορφή γίνονται πολύ ισχυροί διεγέρτες των T κυττάρων μετά από επεξεργασία με την ιστική τρανsgλουταμινάση ( tTG ) [14], μια διαδικασία που μπορεί να οδηγήσει σε δημιουργία νέων επιτόπων κατά την πορεία της νόσου [98]. Η κύρια λειτουργία της ιστικής τρανsgλουταμινάσης είναι να καταλύει την μη αντιστρεπτή διασταυρούμενη σύνδεση (crosslinking) μιας γλουταμίνης των γλουταμινο-δοτών πρωτεϊνών με μια λυσίνη των γλουταμινο-δεκτών πρωτεϊνών οδηγώντας στο σχηματισμό ενός ε-(γ-γλουταμύλ)-λυσίνη (ισοπεπτιδυλικού) δεσμού [99]. Εκτός από την διασταυρούμενη σύνδεση των υποστρωμάτων της, η ιστική τρανsgλουταμινάση μπορεί επίσης να υδρολύει την συνδεδεμένη στο πεπτίδιο γλουταμίνη προς γλουταμικό οξύ και αυτό συμβαίνει είτε όταν το pH είναι χαμηλό, είτε όταν δεν υπάρχουν διαθέσιμες πρωτεΐνες-δέκτες [100], μια διαδικασία που οδηγεί σε αυξημένη ανοσογονικότητα των πεπτιδίων γλουτένης. Πιο πρόσφατα,



χρησιμοποιώντας αλγορίθμους που βασίζονται στο διάστημα μεταξύ των καταλοίπων γλουταμίνης και προλίνης και στην παρουσία ή απουσία άλλων αμινοξέων μέσα στο πεπτίδιο οι Vader και συν. [92,101] προέβλεψαν ότι υπάρχουν 50 και πλέον πεπτίδια ανοσογόνα στη γλουτένη, τη χορντεΐνη και τη σικαλίνη, όμως σχεδόν κανένα στην αβενίνη της βρώμης. Ωστόσο, οι Sollid και συν. [102] ακόμη πιο πρόσφατα παρουσίασαν ενδείξεις ότι και αυτά τα πεπτίδια βρώμης έχουν ικανότητα διεγερτική μετά από απαμίνωση από την tTG. Αυτοί σαφώς έδειξαν ότι υπάρχει μια ειδική, προκαλούμενη από τη βρώμη, ανοσολογική απόκριση. Τέλος, υπάρχουν ενδείξεις ότι δεν αποκλείεται ένα πεπτίδιο να είναι ταυτόχρονα και τοξικό και ανοσογόνο [103].

Στην παθολογία της κοιλιοκάκης φαίνεται να εμπλέκονται τόσο η χυμική όσο και η κυτταρική ανοσιακή απόκριση στην γλοιαδίνη και τις ανάλογες προλαμίνες. Υπάρχει μια διπλάσια έως εξαπλάσια αύξηση των B -κυττάρων που παράγουν ανοσοσφαιρίνες, στο χόριο του λεπτού εντέρου των πασχόντων από κοιλιοκάκη [104]. Επιπλέον, αντισώματα IgA και IgG έναντι κεκαθαρμένης γλοιαδίνης μπορεί να ανιχνευθεί στον ορό των περισσότερων ασθενών από κοιλιοκάκη. Ωστόσο, τα αντισώματα έναντι γλοιαδίνης (AGA) δεν φαίνεται να παίζουν κάποιο ρόλο στην παθολογία της νόσου και ίσως απλώς αποτελούν το αποτέλεσμα μιας μη ειδικής απόκρισης στην είσοδο διαμέσου ενός εντερικού επιθηλίου με διαταραγμένη διαπερατότητα, πεπτιδίων γλουτένης που έχουν υποστεί ατελή πέψη [105]. Εξάλλου, πολλά φυσιολογικά άτομα έχουν αυξημένα επίπεδα αντισωμάτων ορού IgA ή IgG έναντι γλοιαδίνης [106] .

Η ταυτοποίηση των πιο ειδικών αυτοαντισωμάτων έχει βοηθήσει πολύ στην κατανόηση της παθολογίας της κοιλιοκάκης. Τα IgA αυτοαντισώματα έναντι του ενδομυίου, μια δομή από συνδετικό ιστό που περιβάλλει τις λείες μυϊκές ίνες, είναι ουσιαστικά παθολογικά της κοιλιοκάκης και σπάνια ανευρίσκονται σε απουσία της νόσου [107]. Είναι, βέβαια σήμερα, γνωστό ότι το αυτοαντιγόνο στόχος που περιέχεται μέσα στο ενδομύιο είναι το ένζυμο ιστική τρανσγλουταμινάση [8]. Η ιστική τρανσγλουταμινάση απαμινώνει ουδέτερα φορτισμένα κατάλοιπα γλουταμίνης της γλοιαδίνης και τα μετατρέπει σε αρνητικά φορτισμένα κατάλοιπα γλουταμινικού οξέος, τα οποία προτιμώνται στις θέσεις 4, 6 και 7 της σχισμοειδούς θήκης των ετεροδιμερών HLA-DQ [49]. Με τη γλοιαδίνη να δρά ως δότης γλουταμίνης, η ιστική τρανσγλουταμινάση μπορεί επίσης να δημιουργεί

νέους αντιγονικούς επιτόπους με τη διασταυρούμενη σύνδεση μεταξύ μορίων του εξωκυτταρίου στρώματος και της γλοιαδίνης ή των συμπλεγμάτων ιστικής τρανσγλουταμινάσης-γλοιαδίνης [108]. Έχει επίσης παρατηρηθεί ότι η ιστική τρανσγλουταμινάση είναι απαραίτητη για την βιοενεργοποίηση του αυξητικού παράγοντα της βλαστικής μεταμόρφωσης-β , που απαιτείται για την επιθηλιακή διαφοροποίηση [109]. Αυτό το εύρημα καταδεικνύει ότι όχι μόνο η απελευθέρωση της ιστικής τρανσγλουταμινάσης από τα κύτταρα κατά τη διάρκεια μιας φλεγμονής μπορεί να διευκολύνει την παρουσίαση της γλοιαδίνης από τα HLA-DQ2 ή DQ8 μόρια, αλλά και ότι η τοπική παραγωγή αυτοαντισωμάτων έναντι της ιστικής τρανσγλουταμινάσης μπορεί να συνεισφέρει στην απουσία επιθηλιακής διαφοροποίησης που παρατηρείται στην ενεργό βλάβη της κοιλιοκάκης.

Η μεσολαβούμενη από κύτταρα ανοσιακή απόκριση φαίνεται επίσης να είναι σημαντική στην παθογένεια της κοιλιοκάκης. Στους πάσχοντες από κοιλιοκάκη, πολλά από τα T κύτταρα του βλεννογόνου του λεπτού εντέρου ενεργοποιούνται και απελευθερώνουν μεσολαβητές όπως η ιντερφερόνη-γ και ο παράγοντας νέκρωσης των όγκων-α [76]. Τα ενεργοποιημένα T λεμφοκύτταρα είναι άφθονα στο χόριο του λεπτού εντέρου και τα περισσότερα είναι CD4+ κύτταρα [110]. Αντίθετα, τα ενδοεπιθηλιακά κύτταρα, τα οποία είναι παρόντα σε μεγάλους αριθμούς στους πάσχοντες από κοιλιοκάκη, είναι CD8+ κύτταρα [111]. Ενώ στα υγιή άτομα ποσοστό μεγαλύτερο του 90% των ενδοεπιθηλιακών λεμφοκυττάρων εκφράζουν υποδοχείς TcR α/β, η έκφραση των γ/δ TcR υποδοχέων από τα ενδοεπιθηλιακά κύτταρα των πασχόντων από κοιλιοκάκη είναι αυξημένη έως και έξι φορές ( έως 35%) και θεωρείται βασικό χαρακτηριστικό της νόσου [112].

## **A. Η γλουτένη και η φυσική ανοσία**

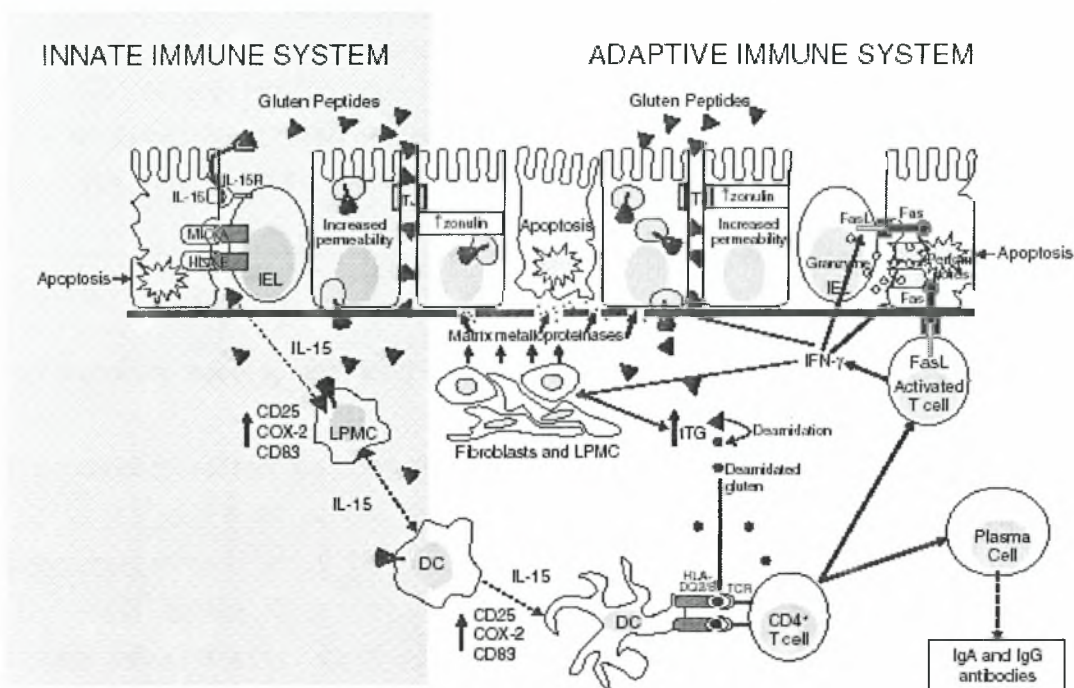
Αν και πολλές εργασίες έχουν δημοσιευτεί αναφορικά με το ρόλο των T κυττάρων στην πρόκληση της εντερικής βλάβης [113,114], λίγα είναι γνωστά για τα πρώτα στάδια της βλάβης του εντερικού βλεννογόνου, όταν η γλουτένη αρχίζει την όλη διαδικασία. Το πρωταρχικό γεγονός της γλουτένο-προκαλούμενης ανοσολογικής απόκρισης απαιτεί ολιγοπεπίδια που φέρουν επιτόπους να έχουν πρόσβαση στο χόριο διαμέσου της σχετικά αδιαπέραστης εντερικής επιθηλιακής στοιβάδας. Κανονικά τέτοια ολιγοπεπίδια υφίστανται

υδρόλυση σε αμινοξέα, δι- ή τρι- πεπτίδια από τις πεπτιδάσες που εντοπίζονται στη μεμβράνη της ψηκτροειδούς παρυφής των διαφοροποιημένων εντεροκυττάρων προτού αυτά μπορέσουν να μεταφερθούν δια μέσου του επιθηλίου. Αυξημένη μεταφορά διαμέσου του εντερικού επιθηλίου έχει καταδειχθεί πρόσφατα τόσο για τα τοξικά όσο και τα ανοσογόνα κλάσματα της γλοιαδίνης μόνο στην ενεργό νόσο [115], επιχειρηματολογώντας εναντίον μιας ιδιοσυστασιακής ανεπάρκειας και ενισχύοντας την άποψη ότι μια ανωριμότητα ή/και μια φλεγμονή είναι υπεύθυνα για αυτό το γεγονός. Αλλά και τα αποτελέσματα των ερευνών των Zimmer και συν. [116] που είχαν νωρίτερα διενεργηθεί βρίσκονταν στην ίδια κατεύθυνση, καταδεικνύοντας ότι η γλοιαδίνη μεταφέρεται μέσα σε κενοτόπια θετικά για τα HLA τάξης II αντιγόνα στα εντεροκύτταρα των ασθενών με κοιλιοκάκη, αλλά όχι στους υγιείς μάρτυρες. Είναι γνωστό, ότι κάτω από την επίδραση ενός stress ή μιας φλεγμονώδους διεργασίας, τα εντεροκύτταρα εκφράζουν όχι μόνο HLA τάξης II μόρια, αλλά και HLA τάξης I (MIC) και HLA E μόρια τα οποία αναγνωρίζονται από τους υποδοχείς των κυττάρων φυσικών φονέων NKG2D και CD94 που είναι παρόντες πάνω στα ενδοεπιθηλιακά λεμφοκύτταρα (IELs) [117]. Πρόσφατες μελέτες καταδεικνύουν ότι η ιντερλευκίνη -15 (IL-15), μια ρυθμιστική κυτταροκίνη η οποία ενισχύει την ομοιόσταση μεταξύ της εγγενούς (φυσικής) και επίκτητης ανοσίας [118], μπορεί να παραχθεί από τα εντερικά επιθηλιακά κύτταρα [119] και είναι ένας ισχυρός διεγέρτης των IELs [120]. Πιστεύεται λοιπόν ότι η ιντερλευκίνη-15 ίσως αποτελεί ένα μόριο κλειδί στην παθογένεια της κοιλιοκάκης [117,121,122,123]. Οι Maiuri και συν. [124] έδειξαν ότι το τοξικό πεπτίδιο γλοιαδίνης 31-43 είναι ικανό να προκαλέσει μια εγγενή ανοσολογική απόκριση με την αύξηση της έκφρασης της ιντερλευκίνης 15, της κυκλοοξυγενάσης -2 και των δεικτών CD25 και CD83 στα κύτταρα του χορίου τα έχοντα τα χαρακτηριστικά των μακροφάγων, των μονοκυττάρων, και των δενδριτικών κυττάρων, χωρίς όμως τη σύνδεση στα HLA-DQ2 -DQ8 μόρια και χωρίς τη διέγερση των CD4+ T κυττάρων. Αυτή η μελέτη σαφώς δείχνει ότι συγκεκριμένα πεπτίδια γλοιαδίνης διεγείρουν μια εγγενή απόκριση, ενώ άλλα προκαλούν την επίκτητη ανοσολογική απόκριση. Ενδιαφέρον είναι, ότι η εγγενής απόκριση στο πεπτίδιο 31-43 απαντάται μόνο στους HLA-DQ2 θετικούς ασθενείς με κοιλιοκάκη, ενώ δεν απαντάται στους HLA-DQ-2 θετικούς μάρτυρες. Αυτή η ιδιότυπη εγγενής απόκριση στη γλουτένη μπορεί να εξηγήσει

γιατί μόνο μερικά DQ2- θετικά άτομα αναπτύσσουν κοιλιοκάκη, ενώ ο επιπολασμός των DQ2 θετικών ατόμων στον δυτικό κόσμο κυμαίνεται μεταξύ του 25% και 35%.

Ένα πρόβλημα που δεν έχει απαντηθεί ακόμη είναι το πως τα πεπτίδια γλουτένης μπορούν να διαπεράσουν τη βασική μεμβράνη, ώστε να αλληλεπιδράσουν άμεσα με τα ανοσοκύτταρα που είναι παρόντα στο χόριο. Γι' αυτόν το σκοπό, τα εντερικά επιθηλιακά κύτταρα φαίνεται να απελευθερώνουν κυστίδια που μοιάζουν με εξοσώματα, και τα οποία είναι μορφολογικά όμοια με εκείνα που εκκρίνονται από τα αντιγόνο παρουσιαστικά κύτταρα (APC). Στην πράξη, πολύ πρόσφατα, οι Van Niel και συν. [125] σαφώς απέδειξαν ότι εξοσώματα προερχόμενα από τα εντερικά επιθηλιακά κύτταρα είναι αντιγόνο παρουσιαστικά κυστίδια που φέρουν συμπλέγματα HLA τάξης II/πεπτίδιο και ότι αυτά αυξάνονται κατά τη θεραπεία με ιντερφερόνη-γ. Τα κλάσματα γλουτένης μπορούν στη συνέχεια να αλληλεπιδράσουν με το υποκείμενο ανοσιακό σύστημα μέσω εξοσωμάτων που απελευθερώνονται από τη βασική πλευρά των εντεροκυττάρων. Αφότου βρεθούν στο χόριο, τα πεπτίδια προσλαμβάνονται και επεξεργάζονται από τα αντιγόνο παρουσιαστικά κύτταρα.

Οι περιγραφείσες παραλλαγές στη μεταφορά και επεξεργασία των πεπτιδίων γλουτένης από τον εντερικό βλεννογόνο στους ασθενείς με κοιλιοκάκη πιθανώς συμμετέχουν στην παθογένεια της νόσου και η συνδυασμένη παρουσία τοξικών και ανοσογόνων αλληλουχιών μπορεί να διεγείρει συνεργικά και τα δύο συστήματα ανοσίας, την εγγενή και την επίκτητη. (Εικόνα 6)



Σχήμα 6. Επιθηλιακή μεταφορά και ανοσολογική αναγνώριση της γλουτένης στη νόσο της κοιλιοκάκης. Στην κοιλιοκάκη τα πεπτίδια γλουτένης μπορούν να διασχίσουν το εντερικό επιθήλιο είτε δια της παρακυττάριας ή της διακυττάριας οδού. Στην πρώτη περίπτωση αυτό συμβαίνει ως επακόλουθο μιας αυξημένης διαπερατότητας η οποία οφείλεται στην αύξηση της ζονουλίνης ( η οποία μπορεί να είναι γλοιαδινό-εξαρτώμενη ή ανεξάρτητη), στην δεύτερη περίπτωση αυτό συμβαίνει με τη χρήση εντεροκυτταρικών κενωτοπίων που φέρουν το σύμπλεγμα HLA τάξης II/πεπτίδιο. Αυτά τα κενωτόπια είναι ικανά να διασχίσουν τη βασική μεμβράνη επιτρέποντας σε ανέπαφα πεπτίδια γλουτένης να έχουν πρόσβαση στο χόριο. Εδώ, αυτά μπορούν να ενεργοποιήσουν τόσο τα δενδριτικά κύτταρα όσο και τα μονοκύτταρα του χορίου να παράγουν ιντερλευκίνη 15, η οποία με τη σειρά της προκαλεί μια αυξημένη παραγωγή πρωτεϊνών του stress από εντεροκύτταρα, που αναγνωρίζονται από τους υποδοχείς των NK παρόντες στα ενδοεπιθηλιακά λεμφοκύτταρα. Από την άλλη πλευρά, απαμινωμένα και μη πεπτίδια γλουτένης παρουσιάζονται από τα ώριμα δενδριτικά κύτταρα στους υποδοχείς των T κυττάρων χρησιμοποιώντας το ετεροδιμερές που κωδικοποιείται από τα γονίδια HLA-DQ2 ή -DQ8. Αυτή η σύνδεση ισχυρά ενεργοποιεί CD4+ T κύτταρα τα οποία με το να εκκρίνουν προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες , διεγείρουν κυτταρολυτικά T κύτταρα και ινοβλάστες να παράγουν μια ειδική μεταλλοπρωτεϊνάση υποστρώματος η οποία είναι υπεύθυνη για την αποσύνθεση τόσο του εξωκυττάριου υποστρώματος όσο και της βασικής μεμβράνης. Τα ενεργοποιημένα T κύτταρα επιπλέον γίνονται ικανά να διεγείρουν την απόπτωση των εντεροκυττάρων παράγοντας μόρια, όπως ο Fas συνδέτης και ένζυμα της οικογένειας των πρωτεασών της σερίνης (granzymes), που είναι υπεύθυνα για την κυτταροτοξικότητα, που οδηγεί στην χαρακτηριστική βλεννογονική βλάβη. Τα



ενεργοποιημένα T κύτταρα είναι επίσης ικανά να προκαλέσουν την διαφοροποίηση των B λεμφοκυττάρων σε πλασματοκύτταρα που παράγουν ειδικά αντισωμάτων έναντι της γλοιαδίνης και έναντι της ιστικής τρανσγλουταμινάσης. DC: δένδριτικά κύτταρα, FasL: Fas συνδέτης, IL: ιντερλευκίνη, IEL: ενδοεπιθηλιακά λεμφοκύτταρα, LPMC: μονοκύτταρο του χορίου, TCR: υποδοχέας του T κυττάρου, TJ: συνεκτικοί δεσμοί [126].

## **Β. Η γλουτένη και η επίκτητη ανοσολογική απόκριση**

Η παρουσία αυξημένων ποσοτήτων πεπτιδίων γλουτένης στο χόριο μαζί με μια γενετική προδιάθεση αυξάνει σημαντικά τον κίνδυνο διάσπασης της ανοχής προς αυτά τα πεπτίδια. Στην κοιλιοκάκη, τα HLA-DQ2 ή -DQ8 μόρια δεσμεύουν πρωτεϊνικά κλάσματα γλουτένης στις πεπτιδικές τους θέκες, και αυτά τα συμπλέγματα εκφράζονται πάνω στην επιφάνεια των αντιγόνο- παρουσιαστικών κυττάρων και έτσι αναγνωρίζονται από τον ειδικό πληθυσμό των CD4+ T κυττάρων. Μία πολύ σημαντική παρατήρηση είναι ότι καλύτερη σύνδεση αυτών των πεπτιδίων γλουτένης με τα HLA-DQ2/DQ8 μόρια, απαιτεί την προηγούμενη τροποποίηση από την ιστική τρανσγλουταμινάση [127,128]. Η εισαγωγή των αρνητικών φορτίων στο πεπτίδιο γλουτένης σε συγκεκριμένες θέσεις, που γίνεται με τη δράση του ενζύμου αυτού, ευνοεί την αλληλεπίδραση με αμινοξέα που βρίσκονται στις θέσεις πρόσδεσης των HLA-DQ2/DQ8 μορίων, και επακολούθως επαυξάνει την πεπτιδική σύνδεση και την διέγερση των T κυττάρων [127,128]. Ο κατάλληλα παρουσιαζόμενος επίτοπος στη συνέχεια συνδέεται με τον υποδοχέα των T κυττάρων CD4+ T λεμφοκυττάρων τα οποία γίνονται ικανά να διεγείρουν κυτταροτοξικά T λεμφοκύτταρα, μακροφάγα, στρωματικά κύτταρα και B λεμφοκύτταρα, εκκρίνοντας κυτταροκίνες και μεταλλοπρωτεΐνωση υποστρώματος [129].

## **Γ. Ο ρόλος των ενδοεπιθηλιακών λεμφοκυττάρων**

Η ενδοεπιθηλιακή λεμφοκυττάρωση είναι σημαντικό στοιχείο της κοιλιοκάκης και η σημασία της φαίνεται από στις δύο κύριες επιπλοκές της νόσου - την ανθεκτική κοιλιοκάκη και το λέμφωμα από T κύτταρα που σχετίζεται με εντεροπάθεια- στις οποίες παρατηρείται μεγάλη αύξηση των ανώμαλων ενδοεπιθηλιακών λεμφοκυττάρων. Η ενδοεπιθηλιακή διήθηση από CD8 T κύτταρα θεωρείτο δευτερογενής στην

απόκριση των CD4 T κυττάρων στο χόριο επειδή δεν είχαν ταυτοποιηθεί ενδοεπιθηλιακά λεμφοκύτταρα καθοριζόμενα από τη γλουτένη. Ωστόσο, σημαντικές διηθήσεις από τέτοια λεμφοκύτταρα δεν παρατηρούνται σε άλλες εντερικές διαταραχές που σχετίζονται με φλεγμονή του χορίου, όπως η νόσος του Crohn και η αυτοάνοση εντεροπάθεια [130]. Αυτό το εύρημα δείχνει ότι η ενεργοποίηση των CD4 T κυττάρων του χορίου δεν αρκεί για να εξηγήσει την αυξημένη παρουσία των ενδοεπιθηλιακών λεμφοκυττάρων στην κοιλιοκάκη. Ανοσολογικές αποκρίσεις μεσολαβούμενες από T κύτταρα κατευθύνονται όχι μόνο έναντι πεπτιδίων αλλά επίσης μπορούν να στοχεύουν στην αναγνώριση κατεστραμμένων κυττάρων που εκφράζουν μόρια όπως τα MIC και HLA E ως επακόλουθο του stress και της ιντερφερόνης γ. Τέτοιες αλλαγές του εντερικού επιθηλίου υπό την επίδραση της γλουτένης έχουν υποτεθεί στην κοιλιοκάκη [131,132]. Τα μόρια MIC και HLA E αναγνωρίζονται από τους υποδοχείς των κυττάρων φυσικών φονέων NKG2D και CD94 που είναι παρόντες στα ενδοεπιθηλιακά λεμφοκύτταρα τα οποία και ενισχύονται από την ιντερλευκίνη 15 [117,133]. Οι επιθηλιακές βλάβες θα μπορούσαν να εξηγηθούν από την απορύθμιση αυτού του συστήματος από το stress και αναγνώριση της βλάβης από τις υψηλές συγκεντρώσεις της ιντερλευκίνης 15, η οποία συμβαίνει στους ασθενείς με κοιλιοκάκη. Η αύξηση των ενεργοποιημένων υποδοχέων των κυττάρων φυσικών φονέων από την ιντερλευκίνη 15 [133], θα μπορούσε να οδηγήσει σε ανεξέλεγκτη ενεργοποίηση των ενδοεπιθηλιακών λεμφοκυττάρων και σε ατροφία των λαχνών. Σύμφωνα λοιπόν με αυτό το μοντέλο, με την παρουσία γλουτένης τα επιθηλιακά κύτταρα των ασθενών με κοιλιοκάκη μεταμορφώνονται, εκκρίνουν ιντερλευκίνη 15, και εκφράζουν MIC τάξης I μόρια. Με τη σειρά της η ιντερλευκίνη 15 προκαλεί αύξηση των υποδοχέων κυττάρων φυσικών φονέων στα ενδοεπιθηλιακά λεμφοκύτταρα, τα οποία αναγνωρίζουν μη-κλασσικά MHC τάξης I μόρια. Αυτό οδηγεί σε ενεργοποίηση των ενδοεπιθηλιακών λεμφοκυττάρων με δυο μηχανισμούς: (1) τη μείωση του ουδού ενεργοποίησης των ενδοεπιθηλιακών λεμφοκυττάρων και την αναγνώριση αυτοαντιγόνων χαμηλής συγγένειας, (2) την απόκτηση δραστηριότητας τύπου κυττάρων φυσικών φονέων. Τα ενεργοποιημένα ενδοεπιθηλιακά λεμφοκύτταρα καταστρέφουν το επιθήλιο με κυτταρόλυση και έκκριση ιντερφερόνης γ. Σ' αυτό το μοντέλο, τα ενδοεπιθηλιακά λεμφοκύτταρα δεν χρειάζεται να αναγνωρίσουν άμεσα τα πεπτίδια γλουτένης. Ωστόσο, ενδεχομένως υπάρχει μια πρωταρχική ατέλεια των

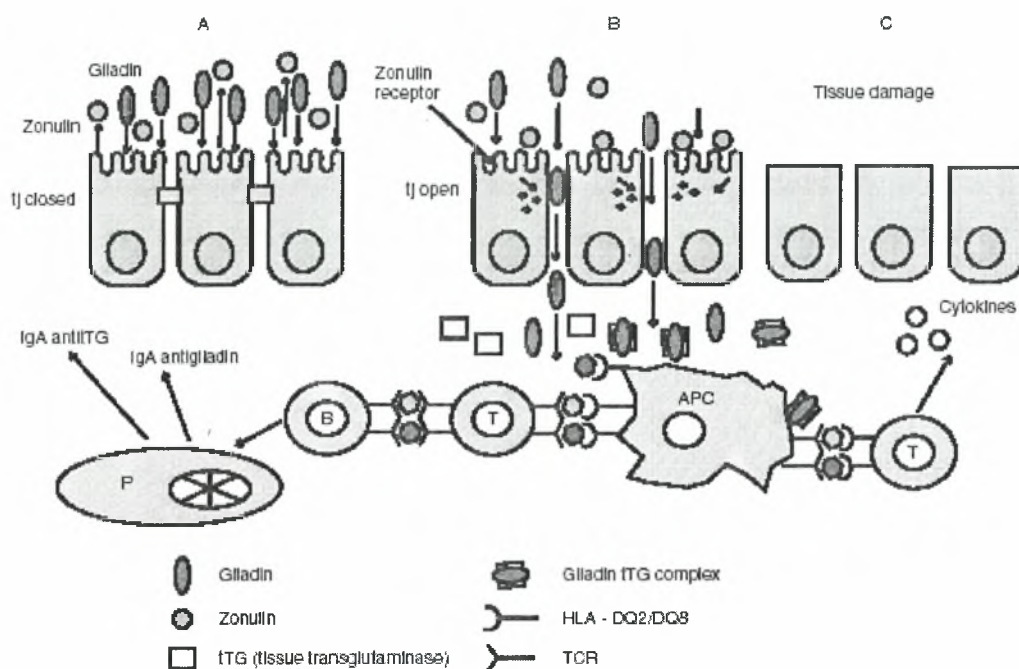
επιθηλιακών κυττάρων στους ασθενείς με κοιλιοκάκη που θα οδηγούσε σε ανώμαλη ευαισθησία για την γλουτένη και υπερέκκριση της ιντερλευκίνης 15. Με βάση τα παραπάνω έχουν χρησιμοποιηθεί θεραπευτικά τα αντισώματα εναντίον της ιντερλευκίνης 15 στην ανθεκτική κοιλιοκάκη, καθώς η ιντερλευκίνη 15 ενεργοποιεί τα ενδοεπιθηλιακά λεμφοκύτταρα και ευνοεί την ανάπτυξη του λεμφώματος [133,134].

#### **1.3.4. ΕΠΙΜΕΡΟΥΣ ΘΕΜΑΤΑ ΤΗΣ ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑΣ**

##### **A. Ο ρόλος της ζονουλίνης**

Σύμφωνα με τους Drago S και συν. [135], στην παθογένεια της κοιλιοκάκης σημαντικό ρόλο φαίνεται να παίζει η ζονουλίνη. Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, το εντερικό επιθήλιο, με τους ανέπαφους διακυττάριους συνεκτικούς δεσμούς (tj) λειτουργεί ως ο κύριος φραγμός στο πέρασμα μακρομορίων όπως είναι η γλουτένη. Κατά τη διάρκεια αυτής της υγιούς κατάστασης, ποσοτικά μικρά αλλά ανοσολογικά σημαντικά κλάσματα αντιγόνων περνούν τον αμυντικό φραγμό. Αυτά τα αντιγόνα απορροφώνται κατά μήκος του βλεννογόνου μέσω δύο λειτουργικών οδών. Η μεγαλύτερη πλειοψηφία των απορροφούμενων πρωτεϊνών (<90%) διαπερνά τον εντερικό φραγμό μέσω της διακυτταρικής οδού, που ακολουθείται από λυσοσωμική διάσπαση η οποία μετατρέπει τις πρωτεΐνες σε μικρότερα, μη-ανοσογόνα πεπτίδια. Το υπόλοιπο ποσοστό των πεπτιδίων μεταφέρεται ως ακέραιες πρωτεΐνες, που οδηγεί σε ειδικές για το αντιγόνο ανοσολογικές αποκρίσεις. Αυτό το τελευταίο φαινόμενο χρησιμοποιεί την παρακυττάρια οδό στην οποία εμπλέκεται μια λεπτή αλλά περίπλοκη ρύθμιση των διακυττάριων συνεκτικών δεσμών, που οδηγεί στην ανοχή αντιγόνων. Όταν η ακεραιότητα του συστήματος των συνεκτικών δεσμών επηρεάζεται, όπως συμβαίνει στην κοιλιοκάκη [136,137], μια ανοσολογική απόκριση έναντι περιβαλλοντικών αντιγόνων (όπως η γλουτένη) μπορεί να αναπτυχθεί. Η αύξηση της ζονουλίνης, ενός πρόσφατα περιγραφόμενου πεπτιδίου του εντέρου που σχετίζεται με τη ρύθμιση των συνεκτικών δεσμών [138], φαίνεται να είναι υπεύθυνη, τουλάχιστον εν μέρει, για την αυξημένη διαπερατότητα του εντερικού βλεννογόνου που είναι χαρακτηριστική της πρώιμης φάσης της κοιλιοκάκης [139]. (Εικόνα 7)





Εικόνα 7. Προτεινόμενο μοντέλο παθογένειας της κοιλιοκάκης. Κάτω από της επίδραση της γλοιαδίνης, η ζονουλίνη υπερπαράγεται (A), η πρωτεΐνη ζονουλίνη συνδέεται με τον υποδοχέα της πάνω στην επιφάνεια των εντεροκυττάρων, οδηγώντας στην διάνοιξη των συνεκτικών δεσμών (B). Τοξικά κλάσματα γλοιαδίνης διαπερνούν το εντερικό επιθήλιο και φθάνουν υποβλεννογόνια, όπου απαμινώνονται από την ιστική τρανσγλουταμινάση (tTG). Η απαμινωμένη γλοιαδίνη παραλαμβάνεται από τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (APCs). Τα συμπλέγματα ιστικής τρανσγλουταμινάσης-γλοιαδίνης παρουσιάζονται στα T κύτταρα μέσω των HLA-DQ2/DQ8 μορίων. Τα T κύτταρα μέσω των υποδοχέων τους TCR αναγνωρίζουν τα συμπλέγματα γλοιαδίνης- ιστικής τρανσγλουταμινάσης και συνθέτουν κυτταροκίνες που οδηγούν σε καταστροφή του επιθηλίου. (C) Τα T κύτταρα επίσης διεγείρουν τα B- κύτταρα τα οποία διαφοροποιούνται προς πλασματοκύτταρα και παράγουν αντισώματα (IgA έναντι γλοιαδίνης και ιστικής τρανσγλουταμινάσης) [135].

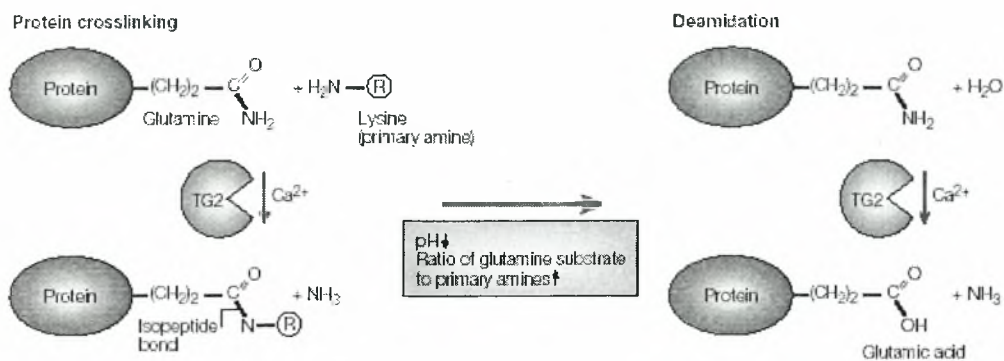
Αυτή η εξαρτώμενη από τη ζονουλίνη αύξηση της διαπερατότητας μπορεί επίσης να ευθύνεται για την αυξημένη επίπτωση των αυτοάνοσων διαταραχών που παρατηρούνται στους ασθενείς με κοιλιοκάκη [140].

## **B. Διαφορές από την αλλεργία**

Οι προσλαμβανόμενες από του στόματος πρωτεΐνες φυσιολογικά δεν προκαλούν ανοσολογική απόκριση. Αυτό το φαινόμενο αποκαλείται "από του στόματος ανοχή". Οι ασθενείς που εκδηλώνουν πραγματική αλλεργία σε μια προσλαμβανόμενη πρωτεΐνη (όπως το γάλα ή η πρωτεΐνη σόγιας) έχουν μια τυπική IgE μεσολαβούμενη απόκριση που εκδηλώνεται με ουρτικάρια, αγγειοοίδημα και βρογχόσπασμο. Η αυτοανοσία στην κοιλιοκάκη αντιθέτως, εμπλέκει πλασματοκύτταρα τα οποία παράγουν IgA, IgG ανοσοσφαιρίνες, ενώ δεν υπάρχει καμία συμμετοχή των IgE ανοσοσφαιρινών.

## **Γ. Ιστική τρανσγλουταμινάση**

Η ιστική τρανσγλουταμινάση είναι ένα ασβέστιο-εξαρτώμενο ενδοκυττάριο ένζυμο που είναι υπεύθυνο για την μετά-μεταφραστική τροποποίηση των πρωτεϊνών, τόσο με την τρανσαμίνωση όσο και με την απαμίνωση συγκεκριμένων γλουταμινών που είναι συνδεδεμένες σε πολυπεπίδια. Η αντίδραση τρανσαμίνωσης περιλαμβάνει μια πρωτογενή αμίνη (λυσίνη ή πολυαμίνη), ενώ η αντίδραση απαμίνωσης περιλαμβάνει νερό. Όταν η λυσίνη ενός άλλου πολυπεπτιδίου προσκολλάται σε μια γλουταμίνη παρατηρείται διασταυρούμενη σύνδεση πρωτεϊνών μέσω ενός ισοπεπτιδικού δεσμού. Σε pH 7,3 ο ρυθμός αντίδρασης με πρωτογενείς αμίνες (τρανσαμίνωση) είναι ταχύτερος από αυτόν με το νερό (απαμίνωση), ωστόσο κάποια απαμίνωση συμβαίνει και παρά την παρουσία πρωτογενών αμινών. Ωστόσο, σε χαμηλότερο pH ο ρυθμός τρανσαμίνωσης μειώνεται ενώ αυξάνει ο ρυθμός απαμίνωσης. Κατάλοιπα στις θέσεις -1,+1,+2, +3 όσον αφορά το κατάλοιπο γλουταμίνης επηρεάζουν τη δραστηριότητα του ενζύμου. Το διάστημα ανάμεσα στην γλουταμίνη και τις γειτονικές προλίνες είναι εξαιρετικά σημαντικό για την ειδικότητα του ενζύμου (Εικόνα 8). Η ιστική τρανσγλουταμινάση (tTG) εκφράζεται σε πολλά όργανα όπως και στο λεπτό έντερο. Το ένζυμο φυσιολογικά αποθηκεύεται ενδοκυττάρια όμως μπορεί να ελευθερωθεί κατά τη διάρκεια κυτταρικού τραυματισμού όπως συμβαίνει από μηχανική βλάβη, φλεγμονή, λοίμωξη, ή κατά την απόπτωση. Κύτταρα πλούσια σε ιστική τρανσγλουταμινάση είναι τα ενεργοποιημένα ενδοθηλιακά κύτταρα, οι ινοβλάστες και τα μονοκύτταρα [8].



Εικόνα 8. Αυτή η σχηματική παράσταση δείχνει την ενζυματική δράση της ιστικής τρανσγλουταμινάσης [99,100].

## **2. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ ΚΑΙ ΜΟΡΦΕΣ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ.**

Η κλασσική περιγραφή της κοιλιοκάκης που είχε γίνει από τον Samuel Gee αφορούσε κυρίως τις αδρές εκδηλώσεις της νόσου [18]. Ωστόσο, αυτός ο τρόπος παρουσίασης είναι σήμερα ασυνήθης στον Δυτικό Κόσμο και συνιστά μόνο την ακραία κορυφή του 'παγόβουνου της κοιλιοκάκης'. Αν και μερικοί ασθενείς ακόμη παρουσιάζονται με βαριά νόσο, οι περισσότεροι ασθενείς έχουν λίγα, ήπια, ή και καθόλου συμπτώματα κατά τη διάγνωση. Τέτοιες περιπτώσεις ανευρίσκονται κατά των έλεγχο συγγενών ασθενών με κοιλιοκάκη, ή κατά τον έλεγχο ασθενών με σχετιζόμενες καταστάσεις, όπως είναι ο σακχαρώδης διαβήτης, ο υποθυρεοειδισμός, ή το σύνδρομο Down.

### **2.1. ΕΚΔΗΛΩΣΗ ΣΤΑ ΠΑΙΔΙΑ**

Η νόσος προσβάλλει τυπικά τα βρέφη και τα μικρά παιδιά που παρουσιάζονται, συνήθως στην ηλικία των 4 έως 24 μηνών, με διάρροια, κοιλιακή διάταση, στεατόρροια, οίδημα, λήθαργο και διαταραχές θρέψης. Ωστόσο, οι εμετοί, η ευερεθιστότητα, η ανορεξία και η δυσκοιλιότητα είναι επίσης κοινά συμπτώματα. Η έναρξη των συμπτωμάτων είναι σταδιακή και ακολουθεί την εισαγωγή της γλουτένης στη διατροφή τους. Ο ρυθμός αύξησης του βάρους σταδιακά μειώνεται προτού εμφανιστεί απώλεια βάρους. Καθυστέρηση ανάπτυξης με ιδιαίτερη καθυστέρηση στις κινητικές ικανότητες μπορεί να συμβεί στις πιο βαριές καταστάσεις, όπου η μυϊκή ατροφία και η υποτονία μπορεί να παρουσιαστούν. Τα παιδιά με αθεράπευτη κοιλιοκάκη τυπικά έχουν μαλακά, ογκώδη, ωχρά δύσοσμα κόπρανα, αν και υδαρής διάρροια ή η δυσκοιλιότητα αναφέρονται περιστασιακά [141]. Τα λίγο μεγαλύτερα παιδιά μπορεί να παρουσιάζουν εμετό χωρίς προσπάθεια, που μπορεί να είναι μεγάλος σε όγκο και συνήθως σχετίζεται με κοιλιακή διάταση αλλά με λίγη ή καθόλου διάρροια. Το κοιλιακό άλγος μπορεί να είναι τόσο έντονο ώστε το παιδί να υφίσταται λαπαροτομία μετά από μια λανθασμένη διάγνωση ειλεού [141]. Τα μεγαλύτερα παιδιά συχνά παρουσιάζουν εξωεντερικές εκδηλώσεις, όπως το χαμηλό ανάστημα, η καθυστέρηση της εφηβείας, η ραχίτιδα, τα

νευρολογικά συμπτώματα ή η αναιμία λόγω ανεπάρκειας σιδήρου ή φυλλικού οξέως. Ανεξήγητο χαμηλό ανάστημα μπορεί να αποτελέσει ένδειξη βιοψίας, ακόμη και όταν τα γαστρεντερικά συμπτώματα είναι ήπια ή και απόντα. Άλλα συμπτώματα –μη τυπικά της κοιλιοκάκης– και χωρίς στοιχεία δυσσπορρόφησης μπορεί επίσης να εμφανιστούν στην εφηβική ηλικία, όπως είναι τα υποτροπιάζοντα κοιλιακά άλγη, η τρανσαμινασαιμία, η υποτροπιάζουσα αφθώδης στοματίτιδα, οι αρθραλγίες, οι ανωμαλίες της αδαμαντίνης των δοντιών, όπως και οι διαταραχές συμπεριφοράς, η κατάθλιψη και η κακή επίδοση στο σχολείο. Αν και δεν έχει διαπιστωθεί αυξημένη θνητότητα στους ασθενείς που είχε τεθεί η διάγνωση της κοιλιοκάκης στην παιδική ηλικία [142], ωστόσο, τα αποτελέσματα μιας πρόσφατης μελέτης δείχνουν ότι η κακοήθης νόσος στην παιδική κοιλιοκάκη μπορεί να έχει υπο-καταγραφεί [143].

Πολλές συζητήσεις και μελέτες γίνονται για να αποσαφηνιστεί ο λόγος που η κοιλιοκάκη τείνει όλο και περισσότερο να διαγιγνώσκεται αργότερα και με ηπιότερα συμπτώματα και σημεία από ότι παλιότερα. Πρόσφατη μελέτη υποστηρίζει ότι ο θηλασμός μπορεί να καθυστερήσει την έναρξη των συμπτωμάτων [144,145]. Ωστόσο, μια ακόμη πιο πρόσφατη μελέτη βρήκε ότι ούτε ο θηλασμός, η ηλικία εισαγωγής των προϊόντων γάλακτος αγελάδας, ούτε η κατανάλωση γλουτένης είχε κάποια σχέση με την έναρξη των συμπτωμάτων [146]. Αν και ο αντίκτυπος των αλλαγών στις πρακτικές διατροφής των βρεφών παραμένει ασαφής, η ποικίλη επίδραση της γλουτένης στο ανώριμο γαστρεντερικό σύστημα μπορεί επίσης να είναι ένας σημαντικός παράγοντας.

## **2.2. ΕΚΔΗΛΩΣΗ ΣΤΟΥΣ ΕΝΗΛΙΚΕΣ**

Η κοιλιοκάκη όλο και συχνότερα τα τελευταία χρόνια διαγιγνώσκεται στους ενήλικους. Περίπου το 20% των περιστατικών αφορούν άτομα μεγαλύτερα των 60 χρόνων [2]. Μερικοί ασθενείς είναι κοντοί, ή έχουν συμπτώματα που σχετίζονται με τη νόσο και χρονολογούνται από την παιδική ηλικία. Ωστόσο, πολλοί δεν έχουν κανένα ιστορικό συμπτωμάτων που να δείχνει ότι η κοιλιοκάκη προϋπήρχε, και έτσι είναι πιθανόν η νόσος να αναπτυχθεί για πρώτη φορά στην ενήλικη ζωή [147].

### 2.3. ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ

Οι κλινικές εκδηλώσεις της κοιλιοκάκης ποικίλουν πολύ από ασθενή σε ασθενή. Επειδή τα περισσότερα συμπτώματα προέρχονται από την εντερική δυσαπορρόφηση, αυτά δεν είναι ειδικά της κοιλιοκάκης αλλά μοιάζουν με συμπτώματα που παρουσιάζονται και σε άλλες διαταραχές που προκαλούν δυσαπορρόφηση. Πολλοί ενήλικες ασθενείς παρουσιάζονται με συμπτώματα από το γαστρεντερικό όπως είναι η διάρροια, η στεατόρροια, ο μετεωρισμός και η απώλεια βάρους. Η διάρροια είναι συνήθως επεισοδιακή παρά συνεχής. Η νυχτερινή διάρροια μπορεί να είναι επίσης συνήθης. Η διάρροια είναι ο πιο συνήθης τρόπος παρουσίασης των ασθενών με κοιλιοκάκη [148]. Ωστόσο, σήμερα ποσοστό μικρότερο του 50% των ασθενών έχουν διάρροια κατά τη στιγμή της διάγνωσης, ενώ παλιότερα σχεδόν όλοι οι ασθενείς είχαν διάρροια κατά τη διάγνωση [149]. Τυπικά οι ασθενείς με κοιλιοκάκη εμφανίζουν διάρροια τρεις έως τέσσερις φορές την ημέρα με κόπρανα που είναι ωχρά, συχνά δύσοσμα, μερικές φορές αφρώδη, και πιθανόν κολλώδη. Φυσιολογικά σχηματισμένα και χρωματισμένα κόπρανα δεν αποκλείουν την διάγνωση της κοιλιοκάκης, και οι συνήθειες του εντέρου μπορεί να μεταβάλλονται ανάλογα με την πρόσληψη γλουτένης [141].

Πολλοί από τους παράγοντες που οδηγούν στην ανάπτυξη διάρροιας σχετίζονται με την κοιλιοκάκη. Ο όγκος των κοπράνων και το οσμωτικό φορτίο που μεταφέρονται στο παχύ έντερο είναι αυξημένα από την δυσαπορρόφηση του λίπους, των υδατανθράκων, των πρωτεϊνών, των ηλεκτρολυτών και άλλων θρεπτικών ουσιών [150]. Επιπλέον, η μεταφορά υπερβολικού διαιτητικού λίπους στο παχύ έντερο πιθανόν οδηγεί στην παραγωγή από τα βακτήρια ύδροξυ-λιπαρών οξέων, που μπορούν να δράσουν ως καθαρικά. Στους συμπτωματικούς ασθενείς, οι ηλεκτρολύτες εκκρίνονται μέσα, παρά απορροφώνται από, τον εντερικό αυλό του άνω λεπτού εντέρου που έχει σοβαρή βλάβη. Αυτή η απέκκριση αυξάνει ακόμη περισσότερο το εντερικό υγρό σε ένα έντερο με μια ικανότητα απορρόφησης ήδη μειωμένη. Υπάρχουν ακόμη ενδείξεις ότι η έκκριση της σεκρετίνης και της χολοκυστοκινίνης ως απόκριση στη λήψη τροφής είναι μειωμένη στην κοιλιοκάκη, που οδηγεί σε μειωμένη μεταφορά της χολής και των παγκρεατικών εκκρίσεων στον εντερικό αυλό, και πιθανόν σε ελαττωμένη ενδοεντερική πέψη [151,152]. Τέλος αν η νόσος



επεκτείνεται στον ειλεό, οι ασθενείς μπορεί να έχουν την άμεση καθαριστική δράση των χολικών αλάτων που δεν απορροφώνται, στο παχύ έντερο [150].

Η απώλεια βάρους είναι πλέον μια ασυνήθης εκδήλωση η οποία υποδηλώνει μια πιο δραματική έκβαση με πιο εκτεταμένη νόσο. Αντιθέτως, τουλάχιστον το 30% των ασθενών είναι υπέρβαροι τη στιγμή της διάγνωσης [153]. Η ναυτία και οι εμετοί συνήθως σχετίζονται με βαριές εξάρσεις διάρροιας. Άνορεξία μπορεί να είναι παρούσα, αν και μπορεί να υπάρχει ακόμη και αύξηση της όρεξης σε νεαρότερους ενήλικες. Αποτυχία απόκτησης βάρους παρά την κατανάλωση 7000 έως 8000 θερμίδων την ημέρα έχει αναφερθεί [141]. Κοιλιακό άλγος με βορβορυγμούς, ορατές περισταλτικές κινήσεις και συμπτώματα αυξημένου μετεωρισμού αναφέρονται, αλλά έντονο άλγος είναι ασύνηθες στην κοιλιοκάκη και θα πρέπει να οδηγήσει τη διαγνωστική σκέψη προς άλλα αίτια ενδοκοιλιακής παθολογίας που θα μπορούσαν να περιπλέξουν την κατάσταση, όπως είναι η συστροφή, ο εγκολεασμός, η χολολιθίαση, το πεπτικό έλκος και η παγκρεατίτιδα [141].

Οι ασθενείς έχουν μια μακρά περίοδο συμπτωμάτων (κατά μέσο όρο 11 χρόνια) και συχνά υπάρχει μια καθυστέρηση στη διάγνωση. Αυτή η καθυστέρηση θεωρείται ότι οφείλεται κυρίως στην αποτυχία διάγνωσης από μέρους των ιατρών παρά στο ότι δεν είχε ζητηθεί ιατρική βοήθεια από μέρους των ασθενών [154]. Ένας παράγοντας που συνεισφέρει στην καθυστέρηση της διάγνωσης είναι ότι οι ασθενείς λαμβάνουν μια εναλλακτική διάγνωση όπως το σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου, καθώς τα συμπτώματα του μετεωρισμού και των αλλαγών των συνηθειών του εντέρου είναι παρόντα και στις δυο νόσους. Ασθενείς που πληρούν τα κριτήρια Rome II, για τη διάγνωση του ευερέθιστου εντέρου, έχουν έναν κίνδυνο 5% να έχουν αδιάγνωστη κοιλιοκάκη, και για αυτό το λόγο αυτή η ομάδα θα πρέπει να ελέγχεται με ορολογικές δοκιμασίες [155]. Η εντεροπάθεια συχνά οδηγεί σε συμπτωματική δυσανεξία στη λακτόζη. Η στεατόρροια σχετίζεται με βαριά και εκτεταμένη νόσο. Κακουχία και καταβολή είναι συχνά συμπτώματα ακόμη και επί απουσίας αναιμίας. Η υποτροπιάζουσα αφθώδης στοματίτιδα μπορεί να είναι το μόνο σύμπτωμα κατά την διάγνωση [156].

Ένας ακόμη τρόπος με τον οποίο η κοιλιοκάκη ανευρίσκεται είναι μέσω της αναγνώρισης των σημείων της ατροφίας των λαχνών σε ασθενείς που υποβάλλονται σε ενδοσκόπηση για συμπτώματα τα οποία

τυπικά δεν σχετίζονται με την κοιλιοκάκη –για παράδειγμα αυτά που σχετίζονται με γαστροοισοφαγική παλινδρόμηση [157].

## **2.4. ΕΞΩΕΝΤΕΡΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ**

Πολλοί ασθενείς με κοιλιοκάκη παρουσιάζονται με συμπτώματα που δεν παραπέμπουν άμεσα στο γαστρεντερικό. Αυτά τα εξωεντερικά συμπτώματα και κλινικά ευρήματα, συχνά είναι το αποτέλεσμα δυσασπορρόφησης των θρεπτικών ουσιών και είναι δυνατόν να αφορούν σε όλα τα συστήματα.

Είναι σημαντικό να έχουμε υπόψη μας ότι τα συμπτώματα είναι συχνά μη ειδικά, οπότε θα πρέπει να υπάρχει υψηλός δείκτης υποψίας όταν έχουμε να αντιμετωπίσουμε σημαντικές διαταραχές στις ανοσολογικές, αιματολογικές και βιοχημικές εξετάσεις. Συγκεκριμένα, η ανεύρεση μιας ανεξήγητης ήπιας μακροκυτταρικής αναιμίας με μια επίμονα χαμηλή τιμή φυλλικού οξέος θα πρέπει να είναι ένδειξη για περαιτέρω διερεύνηση, περιλαμβανομένης και της διερεύνησης για πιθανή κοιλιοκάκη. Άλλες εξωεντερικές εκδηλώσεις, λοιπόν εκτός της αναιμίας, αποτελούν τα οστικά κατάγματα [158], η οστεοπόρωση και η αρθραλγία [156], η υπογονιμότητα [159] και οι καθ'έξιν αποβολές [156], τα ψυχιατρικά σύνδρομα, περιλαμβανομένης της σχιζοφρένειας και της κατάθλιψης [160], οι διάφορες νευρολογικές καταστάσεις, όπως η περιφερική νευροπάθεια, η αταξία και η επιληψία [161], η υποπλασία της αδαμαντίνης, η θρομβοκυττάρωση, η τρανσαμινασαιμία, η αλωπεκία και δερματολογικές εκδηλώσεις όπως η θυλακιώδης υπερκεράτωση και η δερματίτιδα [156].

Οι γυναίκες αποτελούν το 75% των νεοδιαγνωσμένων περιστατικών κοιλιοκάκης των ενηλίκων. Οι γυναίκες επίσης έχουν την τάση να παρουσιάζουν κλινικά πιο ευδιάκριτη νόσο [162].

### **2.4.1. ΑΝΑΙΜΙΑ ΚΑΙ ΚΟΙΛΙΟΚΑΚΗ**

Το ένα τρίτο των νεοδιαγνωσμένων περιστατικών έχουν αναιμία. Η αναιμία είναι συχνό εύρημα τόσο στα παιδιά όσο και στους ενήλικες με κοιλιοκάκη. Ο σίδηρος απορροφάται στο εγγύς λεπτό έντερο, όπου και η εκδηλώσεις της κοιλιοκάκης είναι πιο έντονες, συνεπώς η δυσασπορρόφηση σιδήρου είναι συνηθισμένη. Λιγότερο συχνές είναι η



ανεπάρκεια βιταμίνης B12 και φυλλικού οξέος απ' ότι αυτή του σιδήρου. Η ανεπάρκεια της βιταμίνης B12 δεν είναι τόσο συχνή, καθώς η απορρόφησή της εξαρτάται από συμπαράγοντα και λαμβάνει χώρα στο τελικό τμήμα του ειλεού. Ωστόσο, τα επίπεδα της B12 είναι στατιστικά μειωμένα στους ασθενείς με κοιλιοκάκη σε σύγκριση με τους μάρτυρες και το 12% των ασθενών έχουν πραγματική ανεπάρκεια, η οποία δεν φαίνεται να έχει σχέση με αυτοάνοση γαστρίτιδα. Οι ασθενείς με εκτεταμένη νόσο μπορεί να παρουσιάζουν αιμορραγίες του δέρματος ή των βλεννογόνων ή να έχουν αιματοουρία, επίσταξη, μητρορραγίες ή αιμορραγίες από το γαστρεντερικό. Η αιμορραγία μπορεί να επιδεινώσει μια ήδη προϋπάρχουσα αναιμία και συνήθως οφείλεται σε διαταραχές των παραγόντων της πήξης λόγω της διαταραγμένης απορρόφησης από το έντερο της βιταμίνης K [141]. Υποσπληνισμός, αγνώστου αιτιολογίας, με θρομβοκυττάρωση, μορφολογικές ανωμαλίες ερυθροκυττάρων και σπληνική ατροφία, παρατηρείται σε πολλές περιπτώσεις ενηλίκων με κοιλιοκάκη όμως είναι σπάνιος στα παιδιά [163].

#### **2.4.2. ΟΣΤΕΟΠΩΡΩΣΗ ΚΑΙ ΚΟΙΛΙΟΚΑΚΗ**

Η μέτρηση της οστικής πυκνότητας συστήνεται στους ασθενείς με κοιλιοκάκη επειδή η μειωμένη οστική πυκνότητα είναι συνηθισμένη τόσο στους ενήλικες [164] όσο και στα παιδιά με κοιλιοκάκη [165]. Η μείωση της οστικής πυκνότητας είναι πιο βαριά στους συμπτωματικούς ασθενείς από ότι στο σιωπηλό τύπο της νόσου [166] και σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο καταγμάτων [167]. Η οστική πυκνότητα βελτιώνεται μετά από δίαιτα ελεύθερη γλουτένης, αλλά μπορεί και να μην φτάσει τα φυσιολογικά όρια [168].

Ο υποκείμενος μηχανισμός της οστεοπόρωσης είναι πολυπαραγοντικός, και μπορεί να περιλαμβάνει την δυσαπορρόφηση ασβεστίου, το δευτεροπαθή υπερπαραθυρεοειδισμό, την δυσαπορρόφηση της βιταμίνης D, την αποτυχία να αποκτηθεί μέγιστη οστική πυκνότητα στην παιδική ηλικία, την ανεπάρκεια μαγνησίου, την αυτοανοσία, την παρουσία κυκλοφορούντων κυτταροκινών, και τη μειωμένη λειτουργία των γονάδων στους άνδρες [169]. Οι ασθενείς μπορεί να παραπονούνται για οστικά άλγη, συνηθέστερα οσφυαλγία. Η ανεπάρκεια του ασβεστίου και μαγνησίου μπορεί να προκαλέσει παραισθησίες, μυϊκές κράμπες, ακόμη και τετανία [169]. Ο ορολογικός προληπτικός έλεγχος των

ασθενών με ιδιοπαθή οστεοπόρωση αποκαλύπτει ασθενείς με κοιλιοκάκη [170,171], παρά την απουσία εργαστηριακών ενδείξεων δυσασπορρόφησης του ασβεστίου [171].

#### **2.4.3. ΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΚΟΙΛΙΟΚΑΚΗ.**

Η κοιλιοκάκη σχετίζεται με καθυστερημένη εμμηναρχή, πρόωμη εμμηνόπαυση, αμηνόρροια, καθ' ἑξίν αποβολές, υπογονιμότητα [172] καθώς και μειωμένη συχνότητα σεξουαλικών επαφών [173]. Οι ασθενείς με κοιλιοκάκη επίσης αποκτούν μωρά με χαμηλό βάρος γέννησης [174], αυξημένη περιγεννητική θνησιμότητα [172], και μικρότερο διάστημα θηλασμού [175]. Η συμμόρφωση σε δίαιτα ελεύθερη γλουτένης σχετίζεται με μείωση αυτών των συμβαμάτων. Η κοιλιοκάκη μπορεί να πρωτοεκδηλωθεί κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης ή της λοχείας [176]. Αδιάγνωστη κοιλιοκάκη έχει ανιχνευθεί σε υπογόνιμες γυναίκες κατά τον προληπτικό έλεγχο για την νόσο [159,177], όχι όμως σε όλες τις μελέτες [178]. Η υπογονιμότητα στους άνδρες επίσης σχετίζεται με την κοιλιοκάκη. Η υπογονιμότητα μπορεί να είναι δευτεροπαθής λόγω ανικανότητας ή λόγω μειωμένου αριθμού σπερματοζωαρίων. Αν και οι διαταραχές θρέψης που σχετίζονται με τη δυσασπορρόφηση μπορεί να συμβάλλουν στην ανδρική υπογονιμότητα, διαταραχές του άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης στην ρύθμιση της λειτουργίας των γονάδων έχουν επίσης ενοχοποιηθεί [179]. Επιπροσθέτως, άνδρες με κοιλιοκάκη έχουν την τάση να αποκτούν παιδιά πρόωρα και με χαμηλότερο βάρος γέννησης από ότι οι άνδρες χωρίς τη νόσο [180].

#### **2.4.4. ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ**

Οι απασβεστώσεις του εγκεφάλου και η επιληψία έχουν συσχετιστεί με την κοιλιοκάκη [181,182] και δεν υποχωρούν πάντοτε με την εισαγωγή στη δίαιτα ελεύθερη γλουτένης. Περιφερική νευροπάθεια, αστάθεια, 'αταξία εκ γλουτένης' και άλλα ασαφή νευρολογικά συμπτώματα μπορεί να είναι οι μόνες εκδηλώσεις τις κοιλιοκάκης [183]. Τα αυτοαντισώματα που σχετίζονται με την κοιλιοκάκη φαίνεται να έχουν μια ισχυρή συγγένεια με τα αγγεία του εγκεφάλου [184]. Η αταξία είναι η πιο συνηθισμένη νευρολογική εκδήλωση και το προοδευτικό αταξικό βάδισμα και η αταξία των άκρων μπορεί να είναι οι μόνες εκδηλώσεις σε μερικούς ασθενείς. Αυτές οι

ανωμαλίες θεωρείται ότι οφείλονται σε βλάβες στην παρεγκεφαλίδα, τις οπίσθιες δέσμες του νωτιαίου μυελού και τα περιφερικά νεύρα, και ο όρος 'αταξία εκ γλουτένης' περιγράφει αυτή τη διαταραχή [183]. Μυϊκή αδυναμία και παραισθησία με απώλεια της αισθητικότητας μερικές φορές εμφανίζονται, αλλά και ενδείξεις περιφερικής νευροπάθειας και σπάνια εστιακή απομυελίνωση της σπονδυλικής στήλης και ατροφία της παρεγκεφαλίδας που υποδηλώνουν εγκεφαλοπάθεια Wernicke, έχουν περιγραφεί. Αν και η πιθανή αιτιολογική σχέση με συγκεκριμένες ανεπάρκειες της βιταμίνης B12, της θειαμίνης, της ριβοφλαβίνης και της πυριδοξίνης δεν έχει βεβαιωθεί, έχει αναφερθεί βελτίωση των νευρολογικών συμπτωμάτων σε μερικούς ασθενείς που λαμβάνουν πολυβιταμινούχα σκευάσματα που περιλαμβάνουν τις βιταμίνες A, B, E ή το ασβέστιο. Η συσχέτιση της κοιλιοκάκης τόσο με την επιληψία όσο και με τις αμφοτερόπλευρες βρεγματοϊνιακές απασβεστώσεις του εγκεφάλου έχει σαφώς περιγραφεί [185]. Η αιτία της επιληψίας παραμένει άγνωστη, όμως η πρόγνωση φαίνεται να εξαρτάται από το πόσο νωρίς στην πορεία της νόσου υιοθετείται η δίαιτα ελεύθερη γλουτένης.

Αν και οι περισσότεροι ασθενείς με κοιλιοκάκη δεν φαίνονται να είναι ψυχολογικά επηρεασμένοι, υπάρχουν αρκετές αναφορές σημαντικής βελτίωσης της διάθεσης, της ευερεθιστότητας και της κατάθλιψης σύντομα μετά την έναρξη δίαιτας ελεύθερης γλουτένης [186].

Στον Πίνακα 1 φαίνεται το φάσμα των κλινικών εκδηλώσεων της κοιλιοκάκης.

## ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ ΤΗΣ ΚΟΙΛΙΟΚΑΚΗΣ

### ΣΥΧΝΕΣ

#### Ενηλικες

Σιδηροπενική αναιμία

Διάρροια

#### Παιδιά

Διαταραχές θρέψης

Κοιλιακή διάταση

Διάρροια

### ΛΙΓΟΤΕΡΟ ΣΥΧΝΕΣ

#### Γενικές

Χαμηλό ανάστημα

Καθυστερημένη εφηβεία

#### Γαστρεντερικές εκδηλώσεις

Υποτροπιάζοντα κοιλιακά άλγη

Υποτροπιάζουσα αφθώδης

στοματίτιδα

Στεατόρροια

#### Εξωεντερικές εκδηλώσεις

Μακροκυτταρική αναιμία

Οστεοπόρωση ή οστεοπενία

Ανεπάρκεια της βιτ. Κ

Τρανσαμινασαιμία

Αταξία

Καθ' ἑξιν αποβολές

Πολυνευροπάθεια

Θρομβοκυττάρωση (υποσπληνισμός)

Επιληψία

Αλωπεκία

Αρθραλγία ή αρθρίτιδα

Υπογονιμότητα

Άγχος ή κατάθλιψη

Πίνακας 1. Το φάσμα των κλινικών εκδηλώσεων της κοιλιοκάκης [156].

## 2.5. ΦΥΣΙΚΑ ΣΗΜΕΙΑ

Τα ευρήματα της φυσικής εξέτασης, όπως και τα συμπτώματα, ποικίλουν πολύ στους ασθενείς με κοιλιοκάκη. Οι ασθενείς με ήπια νόσο συχνά έχουν φυσιολογική φυσική εξέταση. Στις πιο βαριές περιπτώσεις τα ευρήματα είναι συχνά το αποτέλεσμα της δυσασπορρόφησης και δεν είναι ειδικά της κοιλιοκάκης.

Οι ασθενείς με κοιλιοκάκη συχνά έχουν χαμηλό ανάστημα και σπάνια έχουν νανισμό. Η καθυστέρηση της ανάπτυξης συχνά συμβαίνει στα παιδιά, όμως όταν αυτά υιοθετήσουν δίαιτα ελεύθερη γλουτένης πριν από την εφηβεία, μια αντισταθμιστική έκρηξη ανάπτυξης συμβαίνει έτσι ώστε η επίδραση στο ύψος της ενήλικης ζωής να ελαχιστοποιείται. Τα άτομα με κοιλιοκάκη είναι κατά μέσο όρο 8 εκ. κοντότερα από τους συνομηλίκους τους. Και ψηλοί ασθενείς, ωστόσο, παρατηρούνται και ένα ύψος άνω του 1.80 μ. δεν αποκλείει την

διάγνωση [169]. Απώλεια βάρους συχνά παρατηρείται στην κοιλιοκάκη τόσο στα παιδιά όσο και στους ενήλικες. Το 60% των νεοδιαγνωσμένων παιδιών βρίσκεται κάτω από την 3<sup>η</sup> εκατοστιαία κλίμακα για το βάρος. Σε μια σειρά ασθενών, ποσοστό 10% έχασε περισσότερο από 12 κιλά μέχρι την έναρξη των συμπτωμάτων. Είναι σύνηθες για τους ενήλικες με κοιλιοκάκη να αναφέρουν μια ανάκτηση βάρους μεγαλύτερη των 6 κιλών μετά από την υιοθέτηση της δίαιτας ελεύθερης γλουτένης. Πληκτροδακτυλία παρατηρείται περιστασιακά, ενώ η κοιλονυχία μπορεί να σχετίζεται με τη σιδηροπενική αναιμία. Σε μερικές περιπτώσεις, μια χαμηλή πυρετική κίνηση που σχετίζεται με την αναιμία ανευρίσκεται σε ασθενείς με κοιλιοκάκη, αλλά αυτό το εύρημα μπορεί να αποτελεί ένδειξη μιας συνυπάρχουσας επιπλοκής όπως είναι κακοήθεια και ιδιαιτέρως το λέμφωμα[169]. Οίδημα και ασκίτης σπάνια παρουσιάζονται και μπορεί να είναι δευτεροπαθείς εκδηλώσεις της υπολευκωματιναιμίας. Κοιλιακή διάταση και αεροκολία είναι κοινά στην κοιλιοκάκη, οφείλονται σε αύξηση των υγρών του πεπτικού σωλήνα και σε αυξημένη παραγωγή αερίων, έχοντας ως αποτέλεσμα τη δυσκολότερη ανίχνευση του ασκίτη. Δερματολογικά ευρήματα όπως η ερπητοειδής δερματίτιδα, οι αυτόματες εκχυμώσεις, λόγω της υποπροθρομβιναιμίας, η υπερκεράτωση λόγω της έλλειψης της βιταμίνης Α και η ωχρότητα λόγω αναιμίας μπορεί να ανευρεθούν. Η εξέταση του στόματος μπορεί να δείξει αφθώδη στοματίτιδα, γωνιακή χειλίτιδα και γλωσσίτιδα. Τα παιδιά μπορεί να έχουν καθυστέρηση στην έκφυση των δοντιών, και υποπλασία της αδαμαντίνης. Η περιφερική λεμφαδενοπάθεια είναι ασυνήθης στην κοιλιοκάκη, και η ανεύρεση σημαντικής λεμφαδενοπάθειας πρέπει να βάζει την υποψία επιπλεκόμενου λεμφώματος. Κοιλιακοί μεσεντέριοι λεμφαδένες που υποχωρούν μετά από μια δίαιτα ελεύθερη γλουτένης έχουν αναφερθεί. Στον έλεγχο με αξονική τομογραφία λεμφαδενοπάθεια χαμηλού βαθμού μπορεί να ανευρίσκεται και να σχετίζεται με υποσπληνισμό [141]. Διαταραχές αισθητικότητας, τόσο της επιπολής, όσο και των δονήσεων και της θέσεως, συνήθως ως αποτέλεσμα της περιφερικής νευροπάθειας, και πιο σπάνια λόγω απομυελινωτικών βλαβών του νωτιαίου μυελού, μπορεί να διαπιστωθούν. Αν η νευροπάθεια είναι βαριά, τα εν τω βάθει τενόντια αντανakλαστικά μειώνονται, ή και απουσιάζουν. Ένα θετικό σημείο Chvostek ή Trousseau μπορεί να εκλύεται αν υπάρχει σοβαρή υποασβεσταιμία ή υπομαγνησισαιμία. Σε αυτούς τους ασθενείς

μπορεί να παρουσιάζεται ευαισθησία των αρθρώσεων, ως συνέπεια της οστεοπενίας και ειδικότερα αν υπάρχουν και κατάγματα [169].

## 2.6. ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΜΟΡΦΕΣ

Όπως αναφέρθηκε και στην εισαγωγή η κοιλιοκάκη μπορεί να εκδηλωθεί με ποικίλες μορφές. Αυτές έχουν οριστεί ως εξής [169]:

- *Κλασσική ή τυπική κοιλιοκάκη.*

Πρόκειται για την πλήρως εκφρασμένη εντεροπάθεια εκ γλουτένης, με την τυπική ιστολογική εικόνα, που βρίσκεται σε συνδυασμό με τα κλασσικά χαρακτηριστικά της δυσασπορρόφησης.

- *Άτυπη κοιλιοκάκη*

Πρόκειται για την πλήρως εκφρασμένη εντεροπάθεια εκ γλουτένης, που βρίσκεται σε συνδυασμό με άτυπες εκδηλώσεις όπως το χαμηλό ανάστημα, η αναιμία, και η υπογονιμότητα.

- *Σιωπηλή κοιλιοκάκη*

Πρόκειται για την πλήρως εκφρασμένη εντεροπάθεια εκ γλουτένης που βρίσκεται μετά από ορολογικό προληπτικό έλεγχο σε ασυμπτωματικούς ασθενείς.

- *Λανθάνουσα κοιλιοκάκη*

Ο όρος λανθάνουσα κοιλιοκάκη αναφέρεται σε ασθενείς που έχουν φυσιολογική αρχιτεκτονική λαχνών ενώ ακολουθούν μια δίαιτα που περιλαμβάνει γλουτένη, αλλά στους οποίους αναπτύσσεται αργότερα ατροφία εντερικών λαχνών συμβατή με κοιλιοκάκη. Δύο υποκατηγορίες της λανθάνουσας κοιλιοκάκης έχουν αναγνωριστεί. Στην πρώτη, η κοιλιοκάκη προϋπήρχε, συχνά κατά τη παιδική ηλικία, ο ασθενής ανένηψε τελείως με μια δίαιτα ελεύθερη γλουτένης, όμως η νόσος παρέμεινε 'λανθάνουσα' ακόμα και όταν υιοθετήθηκε δίαιτα με γλουτένη. Στην δεύτερη, ένας φυσιολογικός βλεννογόνο είχε διαγνωστεί σε κάποια προηγούμενη περίσταση ενώ ο ασθενής κατανάλωνε γλουτένη στα πλαίσια μιας φυσιολογικής δίαιτας, όμως η κοιλιοκάκη αναπτύχθηκε αργότερα.

- *Δυνητική κοιλιοκάκη*

Η δυνητική κοιλιοκάκη αναφέρεται σε ασθενείς που ποτέ δεν είχαν μια βιοψία λεπτού εντέρου συμβατή με κοιλιοκάκη, που όμως παρουσιάζουν ανοσολογικές διαταραχές χαρακτηριστικές της νόσου, όπως θετικά αντισώματα IgA έναντι του ενδομυίου ή αυξημένα



ενδοεπιθηλιακά λεμφοκύτταρα στο λεπτό έντερο. Αυτοί οι ασθενείς έχουν συχνά γενετική προδιάθεση για την κοιλιοκάκη, ειδικά τον απλότυπο HLA-DQ2, ή έχουν πρώτου βαθμού συγγενή με κοιλιοκάκη, και η πιθανότητά τους να αναπτύξουν κοιλιοκάκη μπορεί να είναι τόσο υψηλή όσο 50%[17].

## **2.7. ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΕΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ**

Πολλές παθολογικές καταστάσεις παρατηρούνται σε συνδυασμό με την κοιλιοκάκη [187,188]. Η ερπητοειδής δερματίτιδα, αυτοάνοσα νοσήματα όπως ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου I και η αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα, είναι μερικά μόνο από τα νοσήματα όπου η συχνότητα της κοιλιοκάκης είναι σημαντικά μεγαλύτερη από αυτή του γενικού πληθυσμού. Για παράδειγμα ο επιπολασμός της κοιλιοκάκης στους ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου I προσεγγίζει το 3 έως 8 τοις εκατό [189]. Αλλά και μερικές καταστάσεις παρατηρούνται συχνότερα στους ασθενείς με κοιλιοκάκη όπως η εκλεκτική ανεπάρκεια της IgA η οποία παρατηρείται έως και δέκα φορές συχνότερα στους ασθενείς με κοιλιοκάκη σε σχέση με το γενικό πληθυσμό [190]. Άλλες καταστάσεις για τις οποίες η συσχέτιση είναι σαφής είναι το σύνδρομο Sjogren's , η μικροσκοπική κολίτιδα , η ρευματοειδής αρθρίτιδα, το σύνδρομο Down, η IgA νεφροπάθεια. Πιθανή είναι η συσχέτιση της κοιλιοκάκης με καταστάσεις όπως η συγγενής καρδιοπάθεια, η υποτροπιάζουσα περικαρδίτιδα, η σαρκοείδωση, η κυστική ίνωση, η ινώδης κυψελιδίτιδα, η πνευμονική αιμοσιδήρωση, η φλεγμονώδης νόσος του εντέρου, ιδιαίτερα η ελκώδης κολίτιδα, η αυτοάνοση ηπατίτιδα, η πρωτοπαθής χολική κίρρωση, η σκληρυντική\_χολαγγεΐτιδα, η νόσος του Addison, ο συστηματικός ερυθηματώδης λύκος, η αγγειΐτιδα, η πολυμυοσίτιδα, η μυασθένεια Gravis, η σχιζοφρένεια. (Πίνακας 2) [156].



### Σχετιζόμενες καταστάσεις

#### Βέβαιη συσχέτιση

Ερπητοειδής δερματίτιδα	IgA ανεπάρκεια
Σακχαρώδης διαβήτης τύπου I	Ρευματοειδής αρθρίτιδα
Αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα	Σύνδρομο Down
Σύνδρομο Sjogren's	IgA νεφροπάθεια
Μικροσκοπική κολίτιδα	

#### Πιθανή συσχέτιση

Συγγενής καρδιοπάθεια	Πρωτοπαθής χολική κίρρωση
Υποτροπιάζουσα περικαρδίτιδα	Νόσος Addison
Σαρκοείδωση	Συστηματικός ερυθηματώδης λύκος
Κυστική ίνωση	Αγγειίτιδα
Ινώδης κυψελιδίτιδα	Πολυμυοσίτιδα
Πνευμονική αιμοσιδήρωση	Μυασθένεια Gravis
Φλεγμονώδεις παθήσεις του εντέρου	Σχιζοφρένεια
Αυτοάνοση ηπατίτιδα	

Πίνακας 2. Η κοιλιοκάκη και οι σχετιζόμενες καταστάσεις [156].

Η συχνότητα της κοιλιοκάκης σε πάσχοντες από τις συσχετιζόμενες καταστάσεις όπως και στους πρώτου βαθμού συγγενείς ασθενών με κοιλιοκάκη φαίνεται στον πίνακα 3.

### Επιπολασμός της κοιλιοκάκης στις ομάδες υψηλού κινδύνου – πάσχοντες από σχετιζόμενες καταστάσεις

Ερπητοειδής δερματίτιδα	100%
1 <sup>ου</sup> βαθμού συγγενείς	5%-20%
Σύνδρομο Down	4%-14%
Σ.Δ. τύπου I	6%
Πρωτοπαθής χολική κίρρωση	6%
Αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα	4%
Νόσος Sjogren	3%
Εκλεκτική IgA ανεπάρκεια	1-3%

Πίνακας 3 . Η συχνότητα της κοιλιοκάκης σε κάποιες από τις σχετιζόμενες καταστάσεις [191].

### 2.7.1. ΕΡΠΗΤΟΕΙΔΗΣ ΔΕΡΜΑΤΙΤΙΔΑ ΚΑΙ ΚΟΙΛΙΟΚΑΚΗ.

Αν και η κοιλιοκάκη και η ερπητοειδής δερματίτιδα μοιάζουν σαν δύο ξεχωριστές κλινικές οντότητες, εντούτοις μοιράζονται τη μοναδική ομοιότητα της εντερικής ευαισθησίας στη γλουτένη. Και τα δύο νοσήματα μοιράζονται όχι μόνο όμοιο γενετικό υπόβαθρο και παθοφυσιολογία, αλλά και την ίδια εντερική ιστοπαθολογία, η οποία ανταποκρίνεται σε δίαιτα ελεύθερη γλουτένης.

Η ερπητοειδής δερματίτιδα είναι μια σαφώς περιγραφείσα νοσολογική οντότητα, που εμφανίζεται ως κνησμώνες, φυσαλιδώδες εξάνθημα, κλασσικά στις εκτατικές επιφάνειες του σώματος, το οποίο μπορεί να αφήσει υπερχρωση και ουλή [156]. Αν και η κοιλιοκάκη κυρίως προσβάλλει τον γυναικείο πληθυσμό (αναλογία 2:1) και μπορεί να εμφανιστεί σε οποιαδήποτε ηλικία, η ερπητοειδής δερματίτιδα έχει την τάση να προσβάλλει κυρίως τους ενήλικες άνδρες. Ωστόσο, και πάλι αυτό δεν ισχύει πάντα και έτσι παιδιά μπορεί να παρουσιάσουν με πορφύρα στις επιφάνειες των παλαμών, ενώ ενήλικες μπορεί να παρουσιάσουν με προσβολή των στοματικών και γεννητικών μεμβρανών. Το φυσαλιδώδες εξάνθημα διαγιγνώσκεται από την ανεύρεση της παθογνωμονικής εναπόθεσης ανοσοσφαιρίνης IgA στο δερμο-επιδερμидικό όριο στο υγιές δέρμα, με αυξημένο αριθμό ενεργοποιημένων T κυττάρων [7].

Το εξάνθημα της ερπητοειδούς δερματίτιδας θεωρείται ένας εξωτερικός δείκτης της υποκείμενης εντερικής ευαισθησίας, πιθανόν το αποτέλεσμα μιας κυτταρικής μίμησης ανάμεσα στο αυτοαντιγόνο ιστική τρανσγλουταμινάση που βρίσκεται στο έντερο και της από το δέρμα προερχόμενης επιδερμικής τρανσγλουταμινάσης [192]. Η ερπητοειδής δερματίτιδα και η κοιλιοκάκη έχουν κοινό γενετικό υπόστρωμα, τα αλληλίου HLA τάξης II DQ2 [156,192]. Αν και οι ασθενείς με ερπητοειδή δερματίτιδα δεν έχουν συχνά γαστρεντερικά συμπτώματα ή στοιχεία δυσασπορρόφησης, σχεδόν όλοι έχουν ιστοπαθολογικές αλλαγές του λεπτού εντέρου, είτε με την κλασσική εικόνα της πλήρους ατροφίας των λαχνών, ή συχνότερα μια πιο ήπια διηθητική εικόνα με μερική ή καθόλου ατροφία. Αν και η βιοψία του λεπτού εντέρου δεν είναι συνήθως απαραίτητη στους ασθενείς με ερπητοειδή δερματίτιδα, η οποία θα μπορούσε να τεκμηριώσει αυτές τις εντερικές αλλαγές ως απόδειξη της ευαισθησίας στη γλουτένη φύσης της δερματικής νόσου, θα

ήταν σημαντικό να γίνεται μια τέτοια διαγνωστική προσπάθεια αν υπάρχουν στοιχεία δυσαπορρόφησης [193]. Από τη στιγμή που σε έναν ασθενή τίθεται η υποψία της ερπητοειδούς δερματίτιδας με αρνητική βιοψία δέρματος και θετικό τον ορολογικό έλεγχο για την κοιλιοκάκη, η βιοψία δέρματος θα πρέπει να επαναλαμβάνεται δεδομένης της κατά τόπους φύσης των βλαβών, και ο ασθενής θα πρέπει να παραπέμπεται σε γαστρεντερολόγο για βιοψία λεπτού εντέρου.

Ενδιαφέρουσα είναι η παρατήρηση ότι η εφαρμογή προϊόντων που περιέχουν γλουτένη τοπικά στο δέρμα δεν παράγει το εξάνθημα της ερπητοειδούς δερματίτιδας στους προδιαθετιμένους ασθενείς, ωστόσο η από του στόματος ή διορθική εισαγωγή της γλουτένης έχει βρεθεί ότι οδηγεί στο κλασσικό εξάνθημα της ερπητοειδούς δερματίτιδας. Το εξάνθημα της ερπητοειδούς δερματίτιδας συχνά θεραπεύεται με κατασταλτικά φάρμακα όπως η δαψόνη, σε συνδυασμό με την απόσυρση της γλουτένης. Εκτός από την βελτίωση της ιστολογικής εικόνας του λεπτού εντέρου, η δίαιτα ελεύθερη γλουτένης μπορεί να επιτρέψει και τη μείωση στη δοσολογία της και τελικά τη διακοπή της κατασταλτικής αγωγής [156].

### **2.7.2. ΑΥΤΟΑΝΟΣΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΚΟΙΛΙΟΚΑΚΗ**

Εάν η κοιλιοκάκη είναι μια φλεγμονώδης διαταραχή με δευτερογενείς αυτοάνοσες αντιδράσεις ή είναι μια πρωτογενής αυτοάνοση νόσος που προκαλείται από έναν εξωγενή παράγοντα παραμένει ασαφές. Αυτοάνοσες διαταραχές παρατηρούνται 10 φορές συχνότερα στους ασθενείς με κοιλιοκάκη από ότι στον γενικό πληθυσμό. Στις διαταραχές αυτές περιλαμβάνονται ο ινσουλινοεξαρτώμενος σακχαρώδης διαβήτης [194], οι θυρεοειδοπάθειες [195], το σύνδρομο Sjogren's [196], η νόσος του Addison [197], οι αυτοάνοσες ηπατοπάθειες [198], η μυοκαρδιοπάθεια [199], όπως και νευρολογικές διαταραχές.

Όταν ένα άτομο πάσχει τόσο από κοιλιοκάκη όσο και από κάποια αυτοάνοση διαταραχή, η κοιλιοκάκη συχνά είναι σιωπηλή και ως αποτέλεσμα η αυτοάνοση διαταραχή διαγιγνώσκεται πρώτη.

Η συσχέτιση ανάμεσα στην κοιλιοκάκη και τις αυτοάνοσες νόσους θεωρείται ότι οφείλεται σε μια κοινή γενετική προδιάθεση ( HLA αλληλία) και σε έναν κοινό ανοσολογικό μηχανισμό. Υπάρχουν αρκετές ενδείξεις που υποστηρίζουν τον ρόλο της γλουτένης ως αιτιολογικού

παράγοντα για τα αυτοάνοσα νοσήματα. Μερικά στοιχεία δείχνουν ότι ο επιπολασμός των αυτοάνοσων νοσημάτων σχετίζεται στενά με τη διάρκεια έκθεσης στη γλουτένη (δηλαδή την ηλικία διάγνωσης της κοιλιοκάκης) [200], ενώ τα παιδιά που διαγιγνώσκονται πριν από την ηλικία των 2 ετών δεν έχουν αυξημένη συχνότητα αυτοάνοσων νοσημάτων. Επιπλέον, οι ασθενείς με κοιλιοκάκη έχουν υψηλή ποσοστό οργανοειδικών αντισωμάτων κατά τη διάγνωση σε σύγκριση με αυτούς που ακολουθούν δίαιτα ελεύθερη γλουτένης [201]. Τα αντισώματα που σχετίζονται με το διαβήτη και τον θυρεοειδή μπορεί να εξαφανιστούν όταν τα παιδιά με κοιλιοκάκη συμμορφώνονται στη δίαιτα ελεύθερη γλουτένης [202]. Πολλές αυτοάνοσες νόσοι μπορεί να βελτιωθούν με δίαιτα ελεύθερη γλουτένης, περιλαμβανομένων των νευρολογικών [203], των καρδιολογικών [204] και των νεφρικών νόσων [205]. Αποτελέσματα ανάλογων μελετών έχουν δείξει ότι οι αυτοάνοσες νόσοι μπορούν να προληφθούν με την έγκαιρη διάγνωση της κοιλιοκάκης και ότι σε όσους έχουν ήδη εγκατεστημένες ανοσολογικές διαταραχές, η δίαιτα ελεύθερη γλουτένης θα μπορούσε να παρέχει μια ευκαιρία βελτίωσης των συμπτωμάτων.

## **2.8. ΕΠΙΜΟΝΕΣ ΣΤΗ ΔΙΑΙΤΑ ΜΟΡΦΕΣ ΚΑΙ ΕΠΙΠΛΟΚΕΣ**

Ένας αριθμός ασθενών δεν ανταποκρίνονται στην δίαιτα ελεύθερη γλουτένης και δεν βελτιώνονται κλινικά και ιστολογικά. Ένα σημαντικό πρώτο βήμα είναι η επανεκτίμηση αυτών των ασθενών για την επιβεβαίωση της διάγνωσης με επανεξέταση της αρχικής βιοψίας από έναν ειδικό στην παθολογία του γαστρεντερικού [206]. Ωστόσο το συνηθέστερο αίτιο της πτωχής ανταπόκρισης είναι η συνεχιζόμενη κατανάλωση γλουτένης, είτε εκούσια είτε ακούσια. Οπότε η παραπομπή σε έναν ειδικό διαιτολόγο είναι σημαντική. Άλλος ένας λόγος πτωχής κλινικής ανταπόκρισης στη δίαιτα μπορεί να είναι η δυσανεξία στη λακτόζη, ή φρουκτόζη. Οι περισσότεροι ασθενείς με κοιλιοκάκη έχουν ένα βαθμό δυσανεξίας στη λακτόζη ή φρουκτόζη, η οποία συνήθως επανέρχεται στο φυσιολογικό κατά τη διάρκεια της θεραπείας με δίαιτα ελεύθερη γλουτένης. Ένα μικρό ποσοστό των ασθενών, ωστόσο, έχουν υποκείμενη ανεπάρκεια λακτάσης που δεν επανέρχεται στο φυσιολογικό με τη δίαιτα ελεύθερη γλουτένης και συνήθως έχουν επίμονη διάρροια παρά τη θεραπεία με την δίαιτα ελεύθερη γλουτένης. Η αναγνώριση αυτών των ασθενών είναι σημαντική γιατί οι κατάλληλοι

διαιτητικοί περιορισμοί συνήθως οδηγούν σε υποχώρηση των συμπτωμάτων [141]. Άλλα αίτια μη ανταποκρινόμενης κοιλιοκάκης είναι η παγκρεατική ανεπάρκεια [207], όπως και η συνύπαρξη βακτηριδιακής υπερανάπτυξης του λεπτού εντέρου. Η κολονοσκόπηση και η λήψη βιοψιών θα πρέπει να γίνονται για τον αποκλεισμό της μικροσκοπικής κολίτιδας ή των φλεγμονωδών παθήσεων του εντέρου.

Μερικές επίμονες περιπτώσεις εμφανίζονται από την αρχή ή εξελίσσονται σε κολλαγονώδες sprue, μια βλάβη που χαρακτηρίζεται από υποεπιθηλιακή εναπόθεση κολλαγόνου. Αυτοί οι ασθενείς έχουν κακή πρόγνωση. Η αποτυχία της δίαιτας μπορεί να οφείλεται και σε αυτοάνοση εντεροπάθεια η οποία χαρακτηρίζεται από θετικά αντισώματα έναντι των εντεροκυττάρων [208], αλλά και στην εμφάνιση κάποιας από τις επιπλοκές της νόσου όπως το εντερικό λέμφωμα, η ανθεκτική στα στεροειδή ελκώδης νηστιδο-ειλεΐτιδα, η ανθεκτική κοιλιοκάκη και το καρκίνωμα του στοματοφάρυγγα, του οισοφάγου και του λεπτού εντέρου [156]. (Πίνακας 4).

#### **Επιπλοκές της κοιλιοκάκης**

- Ανθεκτική κοιλιοκάκη ( Refractory sprue)
- T- κυτταρικό λέμφωμα που σχετίζεται με εντεροπάθεια
- Καρκίνωμα του σταματοφάρυγγα, του οισοφάγου και του λεπτού εντέρου
- Καλοήγη έλκη και στενώσεις του λεπτού εντέρου
- Κολλαγονώδες sprue.

---

Πίνακας 4. Τροποποιημένο από FARRELL R, KELLY C. Celiac Sprue [156].

#### **2.8.1. ΑΝΘΕΚΤΙΚΗ ΚΟΙΛΙΟΚΑΚΗ**

Η ανθεκτική κοιλιοκάκη είναι μια διάγνωση εξ' αποκλεισμού, που ορίζεται ως συμπτωματική βαριά εντερίτιδα που δεν ανταποκρίνεται σε μια τουλάχιστον εξαμήνη αυστηρή δίαιτα ελεύθερη γλουτένης, και δεν ερμηνεύεται από άλλα αίτια εντεροπάθειας ή από εμφανές εντερικό λέμφωμα [209].

Η διάγνωση της ανθεκτικής κοιλιόκακης ( refractory sprue) διερευνάται στους ασθενείς με κοιλιόκακη που έχουν επίμονη διάρροια, ατροφία των λαχνών, και αποτυχία ανταπόκρισης σε δίαιτα ελεύθερη γλουτένης. Αυτή η κατάσταση μπορεί να υπάρχει εξ' αρχής ή μπορεί να αναπτύσσεται μετά από μια αρχική ανταπόκριση στη δίαιτα ελεύθερη γλουτένης [209]. Οι Cellier και συν. [210] έχουν χαρακτηρίσει αυτούς τους ασθενείς αναλύοντας τον φαινότυπο των ενδοεπιθηλιακών λεμφοκυττάρων. Ο ανοσοιστοχημικός φαινότυπος αυτών των ενδοεπιθηλιακών λεμφοκυττάρων είναι CD3+, CD8- [210], ενώ τα φυσιολογικά ενδοεπιθηλιακά λεμφοκύτταρα είναι CD3+, CD8+. Επιπροσθέτως, αυτά τα ενδοεπιθηλιακά λεμφοκύτταρα σημειώθηκε ότι έχουν μια ολιγοκλωνική αναδιάταξη του γόνου TCRγ. Η διάγνωση της ανθεκτικής κοιλιόκακης μπορεί επομένως να τεθεί με ανοσοιστοχημικές μελέτες και με ανάδειξη της ολιγοκλωνικής αναδιάταξης του TCR γόνου. Ωστόσο και μεταξύ των ασθενών με ανθεκτική κοιλιόκακη μπορεί να υπάρχουν και άλλοι φαινότυποι δείχνοντας της ετερογένειας της οντότητας αυτής. Η παρουσία των φαινοτυπικά ανώμαλων ενδοεπιθηλιακών λεμφοκυττάρων με κλωνική αναδιάταξη TCR γόνων, έχει οδηγήσει αρκετούς ερευνητές να υποθέσουν ότι η ανθεκτική κοιλιόκακη είναι το πρώτο βήμα για κακοήγη μετατροπή οδηγώντας στο T κυτταρικό λέμφωμα που σχετίζεται με κοιλιόκακη [210,211]. Αυτό το εύρημα υποστηρίζεται και από την εξέλιξη μερικών ασθενών με ανθεκτική κοιλιόκακη προς λέμφωμα [212]. Οι ασθενείς με ανθεκτική κοιλιόκακη μπορεί να χρειαστούν θεραπεία με κορτικοστεροειδή ή άλλα ανοσοκατασταλτικά, περιλαμβανομένης της αζαθειοπρίμης ή της κυκλοσπορίνης [213] καθώς και ολική παρεντερική διατροφή.

### **2.8.2. T- ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΛΕΜΦΩΜΑ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΕΤΑΙ ΜΕ ΕΝΤΕΡΟΠΑΘΕΙΑ**

Το T κυτταρικό λέμφωμα που σχετίζεται με εντεροπάθεια είναι μια μη-ομοιογενής νόσος που αποτελείται από τουλάχιστον δύο διακριτές μορφές. Η κύρια μορφή, CD4-CD8-, με ενδοκυττάρια έκφραση CD3+ είναι σύμφωνη με μια προέλευση από την τυπική ανθεκτική κοιλιόκακη. Ωστόσο αυτό δεν ισχύει για την πιο σπάνια μορφή του T κυτταρικού λεμφώματος CD3+CD8+CD56+ [214,215].

Το συνηθέστερο λέμφωμα που σχετίζεται με την κοιλιόκακη είναι το T κυτταρικό λέμφωμα το σχετιζόμενο με εντεροπάθεια, το οποίο δεν



ανταποκρίνεται στην χημειοθεραπεία και είναι ταχύτατα θανατηφόρο [216]. Ωστόσο, εξωεντερικά λεμφώματα, και Β κυτταρικά λεμφώματα εμφανίζονται επίσης σε ασθενείς με κοιλιοκάκη [217]. Μελέτες έχουν δείξει ότι η διατήρηση μιας μακροχρόνιας δίαιτας ελεύθερης γλουτένης μειώνει τον κίνδυνο του λεμφώματος στο επίπεδο του γενικού πληθυσμού [218,219].

### **2.8.3. ΚΑΚΟΗΘΕΙΣ ΠΑΘΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΚΟΙΛΙΟΚΑΚΗ**

Οι κακοήθεις παθήσεις που είναι περισσότερο συχνές στους ασθενείς με κοιλιοκάκη είναι το αδενοκαρκίνωμα του λεπτού εντέρου, το καρκίνωμα του οισοφάγου και στοματοφάρυγγα-squamous- και το non-Hodgkin λέμφωμα [220]. Η δίαιτα ελεύθερη γλουτένης θεωρείται ότι είναι προστατευτική για την ανάπτυξη κακοήθων νόσων [219], αν και αυτό μπορεί να μην ισχύει για την ανάπτυξη του non-Hodgkin λεμφώματος [221]. Οι ασθενείς με κοιλιοκάκη έχουν 80 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο να αναπτύξουν αδενοκαρκίνωμα του λεπτού εντέρου από ότι ο γενικός πληθυσμός [148,222]. Ο κίνδυνος είναι ιδιαίτερα υψηλός σε ασθενείς με μακρά περίοδο νόσου πριν από την διάγνωση και την υιοθέτηση της δίαιτας.

Η θνητότητα στους ασθενείς με κοιλιοκάκη υπερβαίνει αυτή του γενικού πληθυσμού κατά έναν παράγοντα 1.9-3.8 [9,223], γεγονός που οφείλεται κυρίως σε κακοήθειες.

### **2.8.4. ΚΑΛΟΗΘΗ ΕΛΚΗ ΚΑΙ ΣΤΕΝΩΣΕΙΣ ΤΟΥ ΛΕΠΤΟΥ ΕΝΤΕΡΟΥ**

Χαρακτηρίζεται από πολλαπλά χρόνια, προφανώς καλοήθη έλκη, που συχνότερα ανευρίσκονται στη νήστιδα. Η κατάσταση αυτή προσβάλλει άτομα στην πέμπτη και έκτη δεκαετία της ζωής, και παρουσιάζεται με πυρετό, κόπωση, ανορεξία, απώλεια βάρους, κοιλιακό άλγος και διάρροια [224]. Η αναιμία, μακροκυτταρική ή μικροκυτταρική, είναι συχνή, μαζί με στεατόρροια και εντεροπάθεια με απώλεια πρωτεϊνών. Τα έλκη μπορεί να επιπλέκονται με αιμορραγία, διάτρηση, η δημιουργία στενώσεων, που συχνά οδηγούν σε επείγουσα λαπαροτομία [225]. Οι ασθενείς μπορεί να ωφεληθούν από δίαιτα ελεύθερη γλουτένης, αλλά η ανταπόκριση στη δίαιτα είναι συχνά μικρή. Εάν η νόσος είναι εκτεταμένη η πρόγνωση είναι πτωχή, με το ένα τρίτο των ασθενών να πεθαίνουν από επιπλοκές, αν και είναι σημαντικά



βελτιωμένη εάν το εντερικό τμήμα με τα έλκη ή τις στενώσεις αφαιρεθεί χειρουργικά.

#### **2.8.5. ΚΟΛΛΑΓΟΝΩΔΕΣ SPRUE**

Αυτό χαρακτηρίζεται από την ανάπτυξη μιας υποεπιθηλιακής εναπόθεσης κολλαγόνου πάχους μεγαλύτερου των 10  $\mu\text{m}$  στο λεπτό έντερο. Αν και το κολλαγονώδες sprue έχει θεωρηθεί ως μια οντότητα διακριτή από την κοιλιοκάκη [226], εναπόθεση κολλαγόνου κάτω από τα εντερικά επιθηλιακά κύτταρα έχει παρατηρηθεί σε ποσοστό έως και 36% ασθενών με κλασσική κοιλιοκάκη [227]. Επιπλέον, υπάρχουν αρκετές αναφορές ασθενών με κολλαγονώδες sprue που έχουν αντισώματα έναντι του ενδομυίου [228] και εμφανίζουν επιπλοκές όπως η ανθεκτική κοιλιοκάκη, τα καλοήθη έλκη και οι στενώσεις του λεπτού εντέρου [229] και το λέμφωμα [230]. Αν και οι ασθενείς με κολλαγονώδες sprue συνήθως δεν ανταποκρίνονται στη θεραπεία για την κοιλιοκάκη, η παρουσία κολλαγόνου υποεπιθηλιακά δεν αποκλείει εκ των προτέρων μια πιθανή επιτυχή ανταπόκριση στην απόσυρση της γλουτένης [227,231]. Το κολλαγονώδες sprue πρέπει να διακρίνεται από την κολλαγονώδη κολίτιδα, η οποία σπάνια μπορεί να συνοδεύει την κοιλιοκάκη και πρέπει να λαμβάνεται υπόψη στη διαφορική διάγνωση της ανθεκτικής κοιλιοκάκης [232]. Σε αντίθεση τόσο με την κοιλιοκάκη όσο και με τη κολλαγονώδη κολίτιδα, η πρόγνωση του κολλαγονώδους sprue είναι δυσμενής, οι περισσότεροι καταγεγραμμένοι ασθενείς πέθαναν από τη νόσο.

### 3. ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Τα εργαστηριακά ευρήματα στην κοιλιοκάκη ποικίλουν ανάλογα με την έκταση και τη βαρύτητα της εντερικής βλάβης. Ο αιματολογικός, ο βιοχημικός έλεγχος, η εξέταση των κοπράνων και ο ακτινολογικός έλεγχος μπορεί να είναι μη φυσιολογικοί, αλλά σπάνια παρέχουν μια ειδική διάγνωση, επειδή όμοια παθολογικά ευρήματα μπορεί να ανευρεθούν και σε ασθενείς με άλλα νοσήματα που προκαλούν εντερική δυσαπορρόφηση. Οι δοκιμασίες ανίχνευσης των αντισωμάτων IgA EmA ή tTG όπως και η βιοψία λεπτού εντέρου είναι πιο ακριβείς εξετάσεις για την κοιλιοκάκη [169].

#### 3.1. ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Η χαρακτηριστική αιματολογική εικόνα είναι αυτή μιας ήπιας υπόχρωμης μακροκυτταρικής αναιμίας. Οι ασθενείς με ήπια νόσο μπορεί να παρουσιαστούν μόνο με αναιμία λόγω ανεπάρκειας σιδήρου ή φυλλικού οξέος και χωρίς γαστρεντερικά συμπτώματα. Η βαριά αναιμία είναι ασυνήθης και σχετίζεται με εκτεταμένη νόσο και θα πρέπει να θέτει την υποψία μιας υποκείμενης διαταραχής όπως είναι η κακοήθεια. Η εξαίρεση είναι κατά την διάρκεια της εγκυμοσύνης οπότε δεν είναι ασυνήθες να παρουσιάζονται ασθενείς με συνδυασμένη αναιμία από ανεπάρκεια σιδήρου και φυλλικού, με επίπεδα αιμοσφαιρίνης της τάξης των 4 έως 6g/dl [169].

Το επίχρισμα περιφερικού αίματος μπορεί να αποκαλύψει στοχοκύτταρα, σωματία Howell-Jolly, σιδηροκύτταρα, σωματία Heinz, μικροσφαιροκύτταρα, ακανθοκύτταρα και σπάνια ερυθροβλάστες ή θρομβοκυττάρωση. Η παρουσία μιας ερυθροβλαστικής εμφάνισης με κυκλοφορούντα εμπύρνηνα ερυθροκύτταρα και σωματία Howell-Jolly είναι ενδεικτικά σπληνικής ατροφίας, η οποία συχνά παρατηρείται στην κοιλιοκάκη. Όταν συνυπάρχει η ανεπάρκεια σιδήρου και φυλλικού, τότε προκύπτει η χαρακτηριστική εμφάνιση της διμορφικής αναιμίας. Μακροκυτταρική - μεγαλοβλαστική αναιμία μπορεί να εμφανιστεί τόσο στα παιδιά όσο και στους ενήλικες αν και στα παιδιά η υπόχρωμη μακροκυτταρική αναιμία η οποία αργά ανταποκρίνεται σε από του στόματος σιδηροθεραπεία, είναι πιο συνηθισμένη [141].

### 3.2. ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Κάλιο και Νάτριο: Οι ασθενείς που έχουν επίμονες, συχνές χαλαρές κενώσεις έχουν τον κίνδυνο να αναπτύξουν έλλειμμα νατρίου και καλίου, το οποίο οδηγεί σε καταβολή και απώλεια της μυϊκής δύναμης, που μπορεί να εμφανιστούν με συμπτώματα που να προσομοιάζουν προς μια περιφερική νευροπάθεια. Το έλλειμμα καλίου μπορεί να μιμείται μια νεφρική βλάβη, όμως η από του στόματος χορήγηση υποκατάστατων καλίου ή νατρίου θα αναστρέψει το πρόβλημα [141].

Ασβέστιο και Μαγνήσιο: Οι ασθενείς με κοιλιοκάκη συχνά έχουν υποασβεστιαιμία και υπομαγνησιαιμία, αν και η τελευταία σπάνια συμβαίνει από μόνη της. Συμπτώματα είναι απίθανο να παρατηρηθούν εκτός εάν τα επίπεδα ασβεστίου πέσουν κάτω από τα 1.5 mEq/L. Τα σχετιζόμενα συμπτώματα είναι οι αλλαγές προσωπικότητας, ο τρόμος των άκρων, οι ασυντόνιστες κινήσεις, οι σπασμοί, τα αυξημένα αντανακλαστικά των άκρων, η ναυτία, οι εμετοί, το κοιλιακό άλγος και ο παραλυτικός ειλεός. Δυσανορρόφηση της βιταμίνης D μπορεί να συμβεί οδηγώντας σε οστεομαλακία και αυξημένα επίπεδα παραθορμόνης. Ραχίτιδα, οστικά άλγη και παθολογικά κατάγματα μπορεί επίσης να παρουσιαστούν. Κράμπες και τετανία μπορεί να υπάρχουν λόγω του χαμηλού ασβεστίου και μαγνησίου του ορού, αλλά η θεραπεία υποκατάστασης είναι συνήθως αποτελεσματική [141].

Λευκωματίνη ορού: Στο ένα τρίτο των ασθενών με κοιλιοκάκη η λευκωματίνη ορού είναι μειωμένη. Στην πράξη, μια ανεξήγητη υπολευκωματιναιμία πρέπει να θεωρείται ένδειξη για διερεύνηση για τη νόσο της κοιλιοκάκης. Σοβαρή υπολευκωματιναιμία σε έναν ασθενή που λαμβάνει θεραπεία υποκατάστασης υποδηλώνει μια επιπλοκή όπως είναι το γαστρεντερικό λέμφωμα [141].

Ψευδάργυρος και χαλκός: Η ανεπάρκεια ψευδαργύρου μπορεί να συμβεί στην κοιλιοκάκη και εάν εκδηλωθεί θα πρέπει να θεραπεύεται με υποκατάσταση [141].

Άλλα εργαστηριακά ευρήματα είναι οι διαταραχές πήξης λόγω ανεπάρκειας της βιταμίνης K, η τρανσαμινασαιμία, πιθανώς αυτοάνοσης αρχής, η θρομβοκυτιτάρωση και λευκοκυτιτάρωση λόγω της γενικευμένης φλεγμονώδους κατάστασης, όπως και τα μειωμένα επίπεδα των λιποπρωτεϊνών LDL και HDL που πιθανόν οφείλονται στην μειωμένη απορρόφηση λίπους και στην μειωμένη παραγωγή λιποπρωτεϊνών από το

ήπαρ. Στον πίνακα 5 φαίνονται τα πιθανά εργαστηριακά ευρήματα ενός ασθενούς με κοιλιοκάκη, όπως και η παθοφυσιολογία τους [233].

### Εργαστηριακό εύρημα

### Παθοφυσιολογία

Αναιμία	Ανεπάρκεια σιδήρου, βιταμίνης B12, ή/και φυλλικού οξέος
Αυξημένη αλκαλική φωσφατάση	Οστεοπόρωση, οστεομαλακία
Αυξημένες τρανσαμινάσες	Μικρή αύξηση είναι συνήθης, πιθανώς αυτοάνοσης αρχής
Μειωμένη αλβουμίνη	Κακή θρέψη
Αυξημένα επίπεδα ασβεστίου και μειωμένα φωσφόρου	Ανεπάρκεια βιταμίνης D, δευτεροπαθής υπερπαραθυρεοειδισμός
Θρομβοκυττάρωση, λευκοκυττάρωση	Γενικευμένη φλεγμονώδης αντίδραση
Διαταραχές πήξης	Μειωμένη απορρόφηση της βιταμίνης K
Μειωμένα επίπεδα λιποπρωτεϊνών HDL, HDL	Μειωμένη απορρόφηση λίπους, μειωμένη παραγωγή λιποπρωτεϊνών από το ήπαρ

Πίνακας 5. Τα πιθανά εργαστηριακά ευρήματα ενός ασθενούς με κοιλιοκάκη και η παθοφυσιολογία τους [233].

### **3.3. ΕΞΕΤΑΣΗ ΚΟΠΡΑΝΩΝ**

**Δυσαπορρόφηση λίπους:** Οι περισσότεροι ασθενείς με κοιλιοκάκη είχαν την εμπειρία της στεατόρροιας κάποιες φορές, όμως μέχρι και το 30% έχουν φυσιολογική απέκκριση λίπους κατά τη διάγνωση. Μια συνηθισμένη Δυτικού τύπου δίαιτα περιέχει 60 έως 100 γρ. λίπους την ημέρα, όμως οι πάσχοντες από κοιλιοκάκη έχουν ανακαλύψει από μόνοι τους ότι μπορούν να μειώσουν τις διάρροιές τους μειώνοντας την πρόσληψη λίπους. Συστήνεται λοιπόν, στα υπό εξέταση άτομα να ακολουθούν μια δίαιτα που να περιέχει τουλάχιστον 100 γρ. λίπους για 2 μέρες πριν και κατά την διάρκεια της μελέτης. Όλα τα κόπρανα

μιας περιόδου 3 ημερών πρέπει να συλλέγονται για την εξάλειψη της των διακυμάνσεων από μέρα σε μέρα. Το αποδεκτό άνω όριο της φυσιολογικής αποβολής λίπους με τα κόπρανα, είναι 5 ή 6 γρ./ημέρα. Η εκτίμηση αυτή είναι μια σχετικά αδρή δοκιμασία, που είναι υποκείμενη σε λάθη στη συλλογή ή μέτρηση και δεν είναι ειδική για την κοιλιοκάκη. Η εκτίμηση του λίπους των κοπράνων δεν έχει πλέον θέση στην διερεύνηση ρουτίνας της κοιλιοκάκης [141].

### **3.4. ΔΟΚΙΜΑΣΙΕΣ ΑΝΑΠΝΟΗΣ**

Οι δοκιμασίες υδρογόνου και οι [ $^{14}\text{C}$ ] χολικού οξέος δοκιμασίες αναπνοής μπορεί να είναι παθολογικές, αντανakλώντας ένα βαθμό βακτηριδιακής υπερανάπτυξης του εντέρου, η οποία επανέρχεται στο φυσιολογικό μετά την θεραπεία για την κοιλιοκάκη [141].

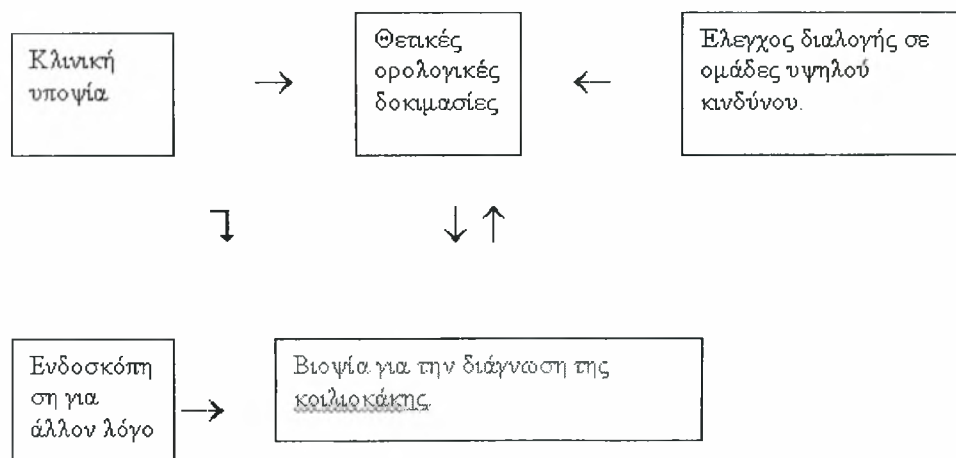
### **3.5. ΔΟΚΙΜΑΣΙΕΣ D- ΞΥΛΟΖΗΣ**

Οι δοκιμασίες απορρόφησης των μονοσακχαριτών και δισακχαριτών στο λεπτό έντερο έχουν χρησιμοποιηθεί για την εκτίμηση της απορροφητικής ικανότητας του λεπτού εντέρου. Η απορρόφηση και η απέκκριση της D - ξυλόζης, η οποία απορροφάται και απεκκρίνεται στα ούρα εντός 5 ωρών, έχει χρησιμοποιηθεί ως διαγνωστική δοκιμασία για πολλά χρόνια. Προληπτικός έλεγχος μπορεί να διενεργηθεί με την μέτρηση της απέκκρισης των L- ραμνόζης και λακτόζης μετά από την κατανάλωση ενός υπέρτονου διαλύματος που περιέχει και τα δύο αυτά σάκχαρα. Οι δοκιμασίες αυτές είναι ενδεικτικές βλάβης του βλεννογόνου του λεπτού εντέρου ή έλλειψης δισακχαριδασών, αλλά δεν είναι ειδικές για την κοιλιοκάκη. Οι τιμές απέκκρισης στα ούρα μπορεί να είναι φυσιολογικές έως και στο 20% των ασθενών. Είναι ευαίσθητες δοκιμασίες αλλά όχι ειδικές. Ως συμπληρωματικές εξετάσεις σε ασθενείς με διαγνωσμένη κοιλιοκάκη, μπορούν να συσχετίσουν την παρουσία μη φυσιολογικής απορρόφησης με τη μη θεραπευμένη νόσο.

### 3.6. ΒΙΟΨΙΑ ΤΟΥ ΛΕΠΤΟΥ ΕΝΤΕΡΟΥ

Η κοιλιοκάκη διαγιγνώσκεται από την παρουσία των χαρακτηριστικών αλλοιώσεων στην βιοψία του λεπτού εντέρου και τη βελτίωση των κλινικών συμπτωμάτων ή των ιστολογικών ευρημάτων μετά από την υιοθέτηση της δίαιτας ελεύθερης γλουτένης.

Η βιοψία του λεπτού εντέρου αποτελεί την κύρια διαγνωστική εξέταση στην κοιλιοκάκη. Η πραγματοποίησή της ενδείκνυται: αν τα αποτελέσματα των ορολογικών εξετάσεων είναι θετικά για κοιλιοκάκη, ή εάν τα αποτελέσματα αυτών των εξετάσεων είναι αρνητικά αλλά η κλινική υποψία είναι υψηλή. Οι βιοψίες επίσης μπορούν να ληφθούν κατά την διάρκεια ενδοσκόπησης για οποιονδήποτε άλλον λόγο εάν υπάρχουν σημεία ατροφίας των λαχνών, ή εάν υπάρχει και κάποια άλλη μη ειδική ένδειξη της νόσου όπως π.χ. σιδηροπενική αναιμία, παρά την φυσιολογική ενδοσκοπική εμφάνιση του εντερικού βλεννογόνου [234]. ( Εικόνα 9 )



Εικόνα 9. Η διαγνωστική προσέγγιση της κοιλιοκάκης [234].

Η διαγνωστική αξία της δωδεκαδακτυλικής βιοψίας είναι εξαιρετικά καλή με υψηλές θετική και αρνητική διαγνωστικές αξίες και ο κίνδυνος εκτέλεσης της βιοψίας είναι αμελητέος.

Πριν από την εκτέλεση της βιοψίας θα πρέπει να ελέγχονται τα επίπεδα αιμοσφαιρίνης, ο αριθμός των αιμοπεταλίων και ο χρόνος προθρομβίνης καθώς ένας αριθμός μη θεραπευμένων ασθενών έχουν παρατεταμένο χρόνο προθρομβίνης, ο οποίος μπορεί να διορθωθεί με την χορήγηση παρεντερικά βιταμίνης K [141].



Ορατές ανωμαλίες του βλεννογόνου υπάρχουν συχνά κατά τη διάρκεια της ενδοσκοπησης. Αυτές είναι η ωχρότητα του βλεννογόνου, η μείωση των δωδεκαδακτυλικών πτυχών, η εξάλειψη του προτύπου των λαχνών και η εικόνα πλακοστρώτου. Αυτές οι αλλοιώσεις σχετίζονται με το βαθμό της ατροφίας των λαχνών, αν και δεν είναι παθολογικές [235]. Η χρησιμοποίηση των μεγεθυντικών ενδοσκοπίων μπορεί να αναγνωρίσει σαφέστερα την ατροφία των λαχνών αλλά δεν προσφέρει σημαντικό πλεονέκτημα και έχει και μειωμένη ευαισθησία σε σύγκριση με την βιοψία που είναι το gold standard της διάγνωσης.

Τα δείγματα βιοψίας λαμβάνονται κατά την διάρκεια της γαστροσκόπησης από το δωδεκαδάκτυλο κατά προτίμηση με τη χρήση μεγάλης λαβίδας βιοψίας. Τουλάχιστον 3 δείγματα θα πρέπει να λαμβάνονται για να αποφευχθούν οι δυσκολίες στην ερμηνεία. Είναι σημαντικό η λήψη των βιοψιών να είναι σωστά προσανατολισμένη, και τα δείγματα να έχουν 3- ή 4-μm πάχος επειδή δείγματα μη σωστά κομμένα ή κατ' εφαπτομένη κομμένα έχουν στη συνέχεια δυσκολίες ερμηνείας. Για την εκτίμηση του ύψους των λαχνών και του βάθους των κρυπτών είναι αναγκαίο να ταυτοποιηθούν τουλάχιστον 3 ανέπαφες λάχνες που να είναι κομμένες κάθετα [206]. Η τοποθέτηση του δείγματος βλεννογόνου γίνεται κατά προτίμηση πάνω σε ένα κομμάτι διηθητικού χαρτιού ( Millipore filters) που παρέχει σωστό προσανατολισμό για την τομή, καθώς το διηθητικό χαρτί μπορεί να περιληφθεί στο πρόσκομμα παραφίνης και να επεξεργαστεί μαζί με τον ιστό.

Τα κύρια ιστολογικά χαρακτηριστικά της κοιλιοκάκης είναι η ατροφία των λαχνών, η απώλεια της αρχιτεκτονικής των λαχνών, η μείωση της αναλογίας του φυσιολογικού ύψους των λαχνών/ βάθους των κρυπτών, η υπερπλασία των κρυπτών, η ενδοεπιθηλιακή λεμφοκυτταρωση και η εξάλειψη της ψηκτροειδούς παρυφής. Το συνολικό πάχος του βλεννογόνου συνήθως αυξάνει λόγω της υπερπλασίας των κρυπτών και της διήθησης του χορίου από πλασματοκύτταρα και λεμφοκύτταρα. Τα επιφανειακά επιθηλιακά κύτταρα γίνονται ψευδοπολύστιβα, σε σύγκριση με το φυσιολογικό υψηλό κυλινδρικό σχήμα και τα επιφανειακά εντεροκύτταρα έχουν μειωμένο ύψος. Η μιτωτική δραστηριότητα των κρυπτών δεν περιορίζεται πλέον μόνο στη βάση. Ο χρόνος της κυτταρικής μετανάστευσης από τη βάση των κρυπτών ως της κορυφή των λαχνών μειώνεται στις 12 έως 24 ώρες από τον φυσιολογικό χρόνο των 3 έως 5 ημερών. Η αναλογία των ενδοεπιθηλιακών λεμφοκυττάρων προς



τα εντεροκύτταρα αυξάνεται στους ασθενείς με ενεργό νόσο. Τα κύτταρα Goblet είναι παρόντα στις κρύπτες και κατά μήκος της επιθηλιακής επιφάνειας [141].

### 3.6.1. ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΗΣ ΒΛΑΒΗΣ ΚΑΤΑ MARSH.

Η ταξινόμηση κατά Marsh [236] έχει προσαρμοστεί για να περιγράψει την εξέλιξη των βλαβών στο βλεννογόνο των ασθενών με κοιλιοκάκη. Η αρχική κατηγοριοποίηση έχει τροποποιηθεί ελαφρώς προκειμένου να βελτιώσει την εφαρμογή της στην κλινική πρακτική.

Η βλάβη τύπου I (διηθητική) κατά Marsh αντιστοιχεί σε φυσιολογική αρχιτεκτονική του βλεννογόνου με λεμφοκυτταρική διήθηση της επιθηλιακής στιβάδας των λαχνών. Ο αριθμός των φυσιολογικών ενδοεπιθηλιακών λεμφοκυττάρων δεν έχει σαφώς καθοριστεί, ωστόσο μια υπέρβαση της τάξης των 30-40 λεμφοκυττάρων προς 100 επιφανειακά εντεροκύτταρα σημαίνει σημαντική αύξηση [236,237]. Χρώση για CD3 μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να διευκολύνει την ταυτοποίηση και την μέτρηση των ενδοεπιθηλιακών λεμφοκυττάρων.

Η βλάβη τύπου II (υπερπλαστική) κατά Marsh υπάρχει εάν, επιπροσθέτως της λεμφοκυττάρωσης, παρατηρείται υπερπλασία των κρυπτών που φαίνεται από την διακλάδωση των κρυπτών, επιμήκυνση και αυξημένη μιτωτική δραστηριότητα. Ο λόγος ύψους των λαχνών/βάθους των κρυπτών μειώνεται κάτω από την φυσιολογική τιμή του 3-5.

Η βλάβη τύπου III (καταστρεπτική) κατά Marsh χαρακτηρίζεται επιπροσθέτως από την ατροφία των λαχνών. Στο στάδιο Marsh IIIA υπάρχει μερική ατροφία των λαχνών, η οποία αντιστοιχεί σε μια αναλογία ύψους λαχνών/βάθους κρυπτών μικρότερη του 1. Το στάδιο Marsh IIIB περιγράφεται ως υπολική ατροφία των λαχνών όπου όμως διακριτές λάχνες ακόμη αναγνωρίζονται. Το στάδιο Marsh IIIC χαρακτηρίζεται από πλήρη ατροφία των λαχνών, χωρίς καμία ευδιάκριτη λάχνη, που μοιάζει με τον βλεννογόνο του παχέος εντέρου.

Η βλάβη τύπου IV (υποπλαστική) κατά Marsh περιγράφει ένα σπάνιο ιστολογικό εύρημα ενός επίπεδου ατροφικού βλεννογόνου που θεωρείται ότι σηματοδοτεί μια μη αντιστρεπτή βλάβη λόγω της χρόνιας φλεγμονής. Φαίνεται ότι αυτές οι ανωμαλίες σχετίζονται με την ανθεκτική κοιλιοκάκη και την ανάπτυξη του σχετιζόμενου με εντεροπάθεια T κυτταρικού λεμφώματος. Σε αυτές τις καταστάσεις,

έναν ανώμαλος μονοκλωνικός πληθυσμός Τ λεμφοκυττάρων με έναν συγκεκριμένο γονότυπο έχουν δειχθεί [230].

### **3.6.2. ΤΑ ΣΤΑΔΙΑ Ι ΚΑΙ ΙΙ ΚΑΤΑ MARSH**

Όπως συμβαίνει και με την κλινική εικόνα της κοιλιοκάκης, αναγνωρίζεται ότι και οι ιστολογικές βλάβες είναι μέρος ενός φάσματος βαρύτητας, με τις πιο ήπιες βλάβες να αποτελούν ένα σημαντικό αριθμό των περιστατικών. Παραδοσιακά, η διάγνωση της κοιλιοκάκης βασίζονταν στην ανεύρεση των βλεννογονικών ανωμαλιών που αντιστοιχούν στη βλάβη τύπου ΙΙΙ κατά Marsh. Είναι σήμερα σαφές ότι πολλά άτομα έχουν γλουτενο-ευαίσθητη φλεγμονή χωρίς ατροφία των λαχνών. Αυτές οι οριακές ιστολογικές ανωμαλίες φαίνεται να βελτιώνονται με τη δίαιτα ελεύθερη γλουτένης [238]. Η βλάβη τύπου Ι κατά Marsh αποτελεί ένα ιδιαίτερο πρόβλημα, επειδή η ερμηνεία συχνά είναι αντιφατική. Επιπροσθέτως η φυσική ιστορία της νόσου δεν έχει διευκρινισθεί. Δεν έχει γίνει γνωστό αν αυτά τα άτομα διατρέχουν τους ίδιους κινδύνους όπως οι κλασσικοί ασθενείς με κοιλιοκάκη με την ατροφία των λαχνών. Τα δεδομένα νοσηρότητας που είναι διαθέσιμα έχουν αποκτηθεί από την μελέτη αυτών που ήταν συμπτωματικοί και είχαν διαγνωσθεί με ατροφία των λαχνών. Σαφές είναι ότι αν ένα άτομο έχει συμπτώματα ή κλινικές εκδηλώσεις που αποδίδονται στην κοιλιοκάκη, η δίαιτα ελεύθερη γλουτένης θα πρέπει να προταθεί. Η απόφαση είναι πιο δύσκολη στην περίπτωση ενός φαινομενικά υγιούς ατόμου με θετικό τον ορολογικό έλεγχο για κοιλιοκάκη και βλάβη τύπου Ι. Είναι δύσκολο να πεισθεί ένα τέτοιο άτομο να ακολουθήσει μια δίαιτα ελεύθερη γλουτένης, αν και μερικά ασυμπτωματικά άτομα αναφέρουν να αισθάνονται αναπάντεχα καλά μετά την υιοθέτηση της δίαιτας [238]. Περισσότερες μελέτες χρειάζονται για τον χαρακτηρισμό της φυσικής ιστορίας και των σχετικών κινδύνων για τις οριακές βλάβες. Ωστόσο θα ήταν συνετό να υπάρξει παρακολούθηση αυτών των ατόμων για το ενδεχόμενο ανάπτυξης επιπλοκών όπως είναι η αναιμία ή η οστεοπόρωση. Πρέπει να λαμβάνεται υπ' όψιν ότι η ενδοεπιθηλιακή λεμφοκυττάρωση είναι μια μη ειδική ανταπόκριση στην επίδραση ενός δυσμενούς ερεθίσματος στο έντερο και μπορεί επίσης να βρεθεί παροδικά σε υγιείς ενήλικες που δεν έχουν κοιλιοκάκη [239]. Ένας αυξημένος αριθμός ενδοεπιθηλιακών λεμφοκυττάρων δεν επαρκεί για την διάγνωση της κοιλιοκάκης και απαιτεί συσχέτιση με

κλινικές και ορολογικές παραμέτρους. Ωστόσο δεν θα ανιχνευθούν όλα τα άτομα με αυτές τις ελάχιστες αλλοιώσεις με την χρήση των αντισωμάτων έναντι της κοιλιοκάκης. Πολλές από τις πρώτες μελέτες για τον προσδιορισμό της ευαισθησίας των ορολογικών δοκιμασιών εστίασαν την προσοχή τους στις βλάβες του σταδίου II και δεν περιέλαβαν πολλές περιπτώσεις κατώτερων σταδίων. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία η ευαισθησία των δοκιμασιών (anti-AGA, anti-hTG, anti-EMA) είναι πολύ χαμηλότερη στις βλάβες τύπου I και II [240] γεγονός που δυσκολεύει το διαγνωστικό δίλημμα.

### **3.6.3. ΕΠΑΝΑΛΗΠΤΙΚΗ ΒΙΟΨΙΑ ΚΑΙ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΠΡΟΚΛΗΣΗΣ ΜΕ ΓΛΟΥΤΕΝΗ**

Κεντρικό στην παθολογία της κοιλιοκάκης είναι το χαρακτηριστικό ότι αυτές οι ανωμαλίες αποκαθίστανται μετά από την δίαιτα ελεύθερη γλουτένης και ότι μπορεί να επανεμφανιστούν μετά από πρόκληση με γλουτένη. Σαφώς, με βάση αυτά θα απαιτούνταν τρεις ξεχωριστές ενδοσκοπήσεις και η επανεισαγωγή της γλουτένης με τον πιθανό κίνδυνο να προκληθεί βαρύτερη νόσος. Γι' αυτόν το λόγο, πολλοί κλινικοί βασίζουν την διάγνωσή τους σε ένα μοναδικό χαρακτηριστικό δείγμα βιοψίας σε συνδυασμό με τον θετικό ορολογικό έλεγχο. Δεν υπάρχει ομοφωνία μεταξύ των κατευθυντηρίων οδηγιών πάνω σε αυτό το θέμα [241,242,243]. Η επαναληπτική βιοψία έχει ορισμένα πλεονεκτήματα. Η επίδειξη ιστολογικής βελτίωσης κάνει την διάγνωση πιο σίγουρη και επιτρέπει στον θεράποντα ιατρό να ελέγξει την επαρκή συμμόρφωση του ασθενούς στη δίαιτα. Αυτή η πληροφορία φαίνεται να είναι καθησυχαστική και για τον ασθενή. Η επιχειρηματολογία εναντίον της δεύτερης βιοψίας είναι ότι πρόκειται για ένα μη αναγκαίο έξοδο και μια ακόμη επεμβατική διαδικασία. Ο ορολογικός έλεγχος μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως ένας κατά προσέγγιση δείκτης της συμμόρφωσης στη δίαιτα, αν και η υποχώρηση του τίτλου δεν αντιστοιχεί και σε ιστολογική βελτίωση [244]. Η βλεννογονική αποκατάσταση φαίνεται να παρατείνεται σε μερικούς ασθενείς και να απαιτεί διάστημα μεγαλύτερο των 18 μηνών [245]. Σε έναν χρόνο, ένα ποσοστό των δειγμάτων βιοψίας θα είναι ανώμαλα λόγω είτε της μη συμμόρφωσης στη δίαιτα, είτε παρά την αυστηρή δίαιτα. Η θεραπευτική συμβουλή – η υιοθέτηση δηλαδή της δίαιτας ελεύθερης γλουτένης– θα είναι η ίδια ανεξάρτητα από τα αποτελέσματα της βιοψίας. Στις

ξεκάθαρες περιπτώσεις όπου υπάρχει βελτίωση των συμπτωμάτων και μείωση του τίτλου των αντισωμάτων, δεν είναι σαφής η ανάγκη για επαναληπτική βιοψία. Σε εκείνους των οποίων τα επίπεδα αντισωμάτων δεν μειώνονται μέσα στους πρώτους 12 μήνες, θα πρέπει να ελεγχθεί η συμμόρφωση στη δίαιτα και μια δεύτερη βιοψία θα πρέπει να διενεργηθεί ως αναγκαία μετά από κοινή συναίνεση. Στις περιπτώσεις όπου η διάγνωση είναι ασαφής μια επαναληπτική βιοψία θα ήταν επίσης χρήσιμη. Παραδείγματα είναι ασθενείς με αρχικό αρνητικό ορολογικό έλεγχο, ασθενείς με επίμονα συμπτώματα, και αυτοί με ελάχιστες ή ασαφείς ιστολογικές βλάβες.

Η δοκιμασία πρόκλησης εφαρμόζεται σήμερα, εκτός εάν υπάρχει κάποια διαγνωστική δυσκολία, κυρίως σε παιδιά. Η τυπική πρόκληση συνίσταται σε ημερήσια πρόσληψη 10 γρ. γλουτένης και αυτό μπορεί να επιτευχθεί με την κατανάλωση 4 φετών άσπρου ψωμιού ημερησίως επί τουλάχιστον 4 εβδομάδες [243].

#### **3.6.4. ΔΙΑΦΟΡΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΗΣ ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗΣ ΒΛΑΒΗΣ**

Η ατροφία των λαχνών και η ενδοεπιθηλιακή λεμφοκυττάρωση δεν είναι αποκλειστικά ευρήματα της κοιλιοκάκης. Άλλα αίτια εντεροπάθειας μπορεί να είναι επίσης υπεύθυνα και αυτά είναι: η λοιμώδης γαστρεντερίτιδα, η βακτηριδιακή υπερανάπτυξη, η δυσανεξία στη λακτόζη, η λαμβλίαση, η νευρογενής ανορεξία, η ισχαιμική εντερίτιδα, η φυματίωση, η νόσος Crohn, η υπογαμμασφαιριναιμία, η τροπική κοιλιοκάκη, η νόσος Whipple, το κολλαγονώδες sprue, η αυτοάνοση εντεροπάθεια, η δυσανεξία στην σόγια, το σύνδρομο Zollinger-Ellison, το εντερικό λέμφωμα, η ιογενής ανοσοανεπάρκεια, και άλλες καταστάσεις ανοσοανεπάρκειας. Όσον αφορά τις αυτό-περιοριζόμενες γαστρεντερικές λοιμώξεις, αυτές οι βλάβες θα αποκατασταθούν αυτόματα. Οι άλλες πιο σπάνιες καταστάσεις θα πρέπει να λαμβάνονται υπ' όψιν στις περιπτώσεις όπου δεν φαίνονται τυπικές της κοιλιοκάκης αλλοιώσεις ή σε ασθενείς που δεν ανταποκρίνονται ως αναμένεται στην δίαιτα ελεύθερη γλουτένης [141].

#### **3.6.5. ΒΙΟΨΙΑ ΜΕ ΚΑΨΟΥΛΑ**

Σε σπάνιες περιπτώσεις λαμβάνονται βιοψίες λεπτού εντέρου με ειδικές κάψουλες ( Watson ή Crosby-Krugler) χωρίς ενδοσκόπηση

[246]. Μειονέκτημα της μεθόδου είναι ότι οι βιοψίες αυτές λαμβάνονται τυφλά και τα δείγματα είναι μονήρη, αν και μεγαλύτερα σε μέγεθος. Έχουν πάντως κατασκευαστεί και κάψουλες πολλαπλών δειγμάτων, ( Quinton ή Rubin ) οι οποίες δεν έτυχαν ευρείας εφαρμογής.

### **3.7. ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ**

Ο ακτινολογικός έλεγχος του λεπτού εντέρου με διάβαση ή εντερόκλυση δεν είναι πάντοτε απαραίτητος. Τυπικά ευρήματα όπως η διάταση του λεπτού εντέρου με πάχυνση ή εξάλειψη των βλεννογονικών πτυχών και ο ευθειασμός των κυκλοτερών πτυχών, δεν είναι ασυνήθη. Η αξονική τομογραφία κοιλίας ή η μαγνητική τομογραφία μπορεί να είναι ενδεικτικές κοιλιοκάκης αποκαλύπτοντας υποσπληνισμό, ασκίτη ή λεμφαδενοπάθεια, περιλαμβανομένων των σπηλαιοποιημένων μεσεντέριων λεμφαδένων, ενώ η πάχυνση του λεπτού εντέρου μπορεί να υποδηλώνει την παρουσία λεμφώματος [247].

### **3.8. ΟΡΟΛΟΓΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ**

Οι ασθενείς με κοιλιοκάκη που καταναλώνουν γλουτένη εκφράζουν υψηλά επίπεδα αντισωμάτων ορού έναντι της ρετικουλίνης, του ενδομυίου, της γλοιαδίνης και της ιστικής τρανσγλουταμινάσης [248,249]. Ο αποκλεισμός της γλουτένης από τη δίαιτα οδηγεί σε μείωση του τίτλου αυτών των αντισωμάτων και τελικά στην εξαφάνισή τους.

#### **3.8.1. ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΕΝΑΝΤΙ ΡΕΤΙΚΟΥΛΙΝΗΣ**

Τα αντισώματα ορού έναντι της ρετικουλίνης (ARA) είναι ιστικά αυτοαντισώματα, και είναι της τάξης IgA και IgG [250]. Τα αντισώματα αυτά ανιχνεύονται καλύτερα με την μέθοδο του έμμεσου ανοσοφθορισμού σε παγωμένες τομές οργάνων ( ήπατος, νεφρού, στομάχου) ποντικού. Έχουν περιγραφεί διάφοροι τύποι προτύπων ανοσοφθορισμού των ARA – R1, R2, Rs, Kc, AC [251]. Από αυτά το ARA-R1 πρότυπο φθορισμού συνδέεται με την κοιλιοκάκη και την ερπητοειδή δερματίτιδα και χαρακτηρίζεται από φθορισμό των περισωληναριακών και περισπειραματικών ινών του νεφρού και φθορισμό στην ηπατική



πυλαία [252]. Τα αντισώματα έναντι ρετικουλίνης αποτελούν μια ειδική αλλά όχι ευαίσθητη δοκιμασία. Η ευαισθησία τους κυμαίνεται από 44 έως 100% και η ειδικότητα τους από 86 έως 100% [253]. Η χρήση τους τα τελευταία χρόνια είναι μάλλον περιορισμένη.

### **3.8.2. ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΕΝΑΝΤΙ ΕΝΔΟΜΥΙΟΥ**

Το 1983 οι Chorzelski και συν. [254] περιέγραψαν ένα νέο, τάξης IgA ιστικό αυτοαντίσωμα που κατευθύνονταν έναντι της 'ρετικουλίνη-like' θετικής στη χρώση αργύρου ουσίας των ενδομυοϊνιδίων του λείου μυός του οισοφάγου πιθήκου, που ονομάζεται αντίσωμα έναντι ενδομυίου ( EmA ). Αυτό το αντίσωμα βρέθηκε ότι σχετίζοταν ισχυρά με την κοιλιοκάκη. Τα αντισώματα EmA συνδέονται με τον συνδετικό ιστό που περιβάλλει τα λεία μυϊκά κύτταρα [105]. Τομές οισοφάγου πιθήκου χρησιμοποιήθηκαν αρχικά. Πρόσφατα, τα περισσότερα εργαστήρια χρησιμοποιούν τομές ανθρώπινου ομφάλιου λώρου, που είναι σαφώς πιο εύκολα διαθέσιμος από τον οισοφάγο πιθήκου [255]. Τα αντισώματα IgA EmA συνδέονται με το ενδομύϊο και παράγουν ένα χαρακτηριστικό πρότυπο ανοσοφθορισμού, το οποίο ανιχνεύεται με τη μέθοδο του έμμεσου ανοσοφθορισμού. Το αποτέλεσμα της δοκιμασίας αναφέρεται απλά ως θετικό ή αρνητικό, επειδή ακόμα και χαμηλοί τίτλοι είναι πολύ ειδικοί για την κοιλιοκάκη. Η δοκιμασία προσδιορισμού των IgA EMA αντισωμάτων έχει καθιερωθεί ως πολύ ευαίσθητη και ειδική δοκιμασία. Τα επίπεδα του αντισώματος πέφτουν με τη δίαιτα ελεύθερη γλουτένης και η δοκιμασία συχνά αρνητικοποιείται στους θεραπευμένους ασθενείς [256].

### **3.8.3. ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΕΝΑΝΤΙ ΓΛΟΙΑΔΙΝΗΣ**

Τα αντισώματα έναντι γλοιαδίνης (AGA) της τάξης IgA και IgG, στρέφονται έναντι της γλοιαδίνης, της πρωτεΐνης δηλαδή των δημητριακών, προσδιορίζονται με ενζυμικό ανοσοπροσροφητικό προσδιορισμό (ELISA) και έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί για την διάγνωση της κοιλιοκάκης και για την παρακολούθηση της ανταπόκρισης στη θεραπεία. Αυτές οι δοκιμασίες έχουν μέτριες ευαισθησίες και ειδικότητες. Η δοκιμασία προσδιορισμού των αντισωμάτων IgA AGA έχει κάπως υψηλότερη ευαισθησία και ειδικότητα από την δοκιμασία IgG AGA. Η τελευταία είναι χρήσιμη για το ποσοστό 1% έως 2% των ασθενών



με κοιλιοκάκη που συνυπάρχει εκλεκτική IgA ανεπάρκεια. Δυστυχώς η θετική διαγνωστική αξία των AGA στον γενικό πληθυσμό είναι σχετικά πτωχή.

#### **3.8.4. ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΕΝΑΝΤΙ ΤΗΣ ΙΣΤΙΚΗΣ ΤΡΑΝΣΓΛΟΥΤΑΜΙΝΑΣΗΣ**

Αφότου αναγνωρίστηκε ότι η tTG είναι το υπόστρωμα που αναγνωρίζεται από τα αντισώματα έναντι του ενδομυίου [8], μια ELISA έχει αναπτυχθεί και επικυρωθεί ως μια εναλλακτική δοκιμασία για την κοιλιοκάκη [257]. Αρχικά η μέθοδος χρησιμοποίησε ως υπόστρωμα για την ELISA tTG από ινδικό χοιρίδιο. Η πρόσφατη κλωνοποίηση της ανθρώπινης tTG [258] και η χρησιμοποίησή της ως υπόστρωμα στον ενζυμικό ανοσοπροσροφητικό προσδιορισμό (ELISA), οδήγησε σε μια δοκιμασία με υψηλότερη ευαισθησία και ειδικότητα [259].

Σε συγκεκριμένες περιπτώσεις, όπως στην εκτίμηση για πιθανή κοιλιοκάκη μεταξύ ασθενών με αυξημένες τρανσαμινάσες και λανθάνουσα ηπατοπάθεια, υπήρξε υψηλή συχνότητα ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων. Ένας λόγος που συμβαίνει αυτό είναι, όταν η tTG προέρχεται από ινδικό χοιρίδιο, εξαιτίας της παρουσίας ηπατικών πρωτεϊνών στην εμπορική tTG που έχει αποκτηθεί από το ήπαρ του ινδικού χοιριδίου. Το πρόβλημα αυτό αντιμετωπίστηκε με την χρήση ανθρώπινης tTG ως το αντιγόνο της ELISA [260].

Οι αρχικές μελέτες έδειξαν μια ευαισθησία 95-98% και ειδικότητα 94-95% για την δοκιμασία IgA anti-tTG, αντίστοιχα για τους μη θεραπευμένους ασθενείς με κοιλιοκάκη [257,258,261]. Τα αποτελέσματα των ELISA για τα IgA anti-tTG αντισώματα συσχετίζονταν καλά με τις παραδοσιακές δοκιμασίες για τα αντισώματα IgA έναντι του ενδομυίου και ο τίτλος των αντισωμάτων έναντι tTG κυμαίνονταν ανάλογα με την διαιτητική έκθεση στη γλουτένη με έναν τρόπο σύμφωνο με τις προηγούμενες παρατηρήσεις για τα αντισώματα έναντι ενδομυίου [262]. Επιπλέον, η δοκιμασία του ενδομυίου βασίζεται στον έμμεσο ανοσοφθορισμό με τη χρήση οισοφάγου πιθήκου ή ομφάλιου λώρου, είναι ως εκ τούτου μέθοδος που κοστίζει, είναι επίπονη και υποκειμενική. Αντιθέτως τα αντισώματα έναντι της tTG, μπορούν εύκολα να μετρηθούν με την ELISA, με διαγνωστική ευαισθησία και ειδικότητα που είναι συγκρίσιμες με αυτές των αντισωμάτων έναντι του ενδομυίου [257,263]. Κατόπιν τούτων, η tTG πρόβαλλε ως η προτεινόμενη αρχική διαγνωστική μέθοδος [258,259,260,261]. Σε μια πρόσφατη μελέτη οι

Agardh και συν. [262], προτείνουν ότι καθώς τα αντισώματα IgA-tTG είναι πιο ειδικά και ευαίσθητα από τα IgG1-tTG και τα IgM-tTG, αυτά θα πρέπει να εφαρμόζονται στις αδρές δοκιμασίες ελέγχου για την κοιλιοκάκη. Τα IgG1-tTG αντισώματα χρησιμοποιούνται σε παιδιά που έχουν διαγνωστεί πριν από την ηλικία των 2 ετών και θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως αρκετά ευαίσθητο υποκατάστατο της δοκιμασίας IgA-tTG σε παιδιά με ανεπάρκεια της IgA.

Ένα εύλογο ερώτημα είναι γιατί οι ασθενείς με κοιλιοκάκη παράγουν αντισώματα έναντι της tTG. Η πιο πειστική εξήγηση είναι αυτή που έχει δοθεί από τους Sollid και συν. [264], οι οποίοι το αιτιολόγησαν ως εξής: η tTG φαίνεται ότι μπορεί να πραγματοποιεί διασταυρούμενη σύνδεση μεταξύ της ίδιας και της γλουτένης, και αυτό το σύμπλεγμα γλουτένης-tTG θα προσληφθεί από τα B- κύτταρα που εκφράζουν ειδικές για την tTG ανοσοσφαιρίνες στην μεμβράνη τους. Ως αποτέλεσμα αυτής της πρόσληψης, το σύμπλεγμα γλουτένης-tTG θα διασπαστεί ενδοκυττάρια και το πεπτίδιο της γλουτένης θα συνδεθεί με τα HLA-DQ μόρια και θα εκφραστεί στην κυτταρική επιφάνεια. Σε ασθενείς με κοιλιοκάκη, τα ειδικά για την γλουτένη T κύτταρα αναγνωρίζουν αυτό το σύμπλεγμα HLA-DQ πεπτιδίου και αυτό οδηγεί στη 'βοήθεια' των T κυττάρων για την παραγωγή των tTG -ειδικών αντισωμάτων από τα B κύτταρα. Το γεγονός ότι μόνο οι ασθενείς με κοιλιοκάκη έχουν μετρήσιμες τιμές των ειδικών για την γλουτένη T κυττάρων, εξηγεί γιατί μόνο οι ασθενείς με κοιλιοκάκη παράγουν tTG-ειδικά αντισώματα και επίσης γιατί οι τίτλοι των αντισωμάτων πέφτουν μετά από την απόσυρση της γλουτένης [49,265].

### **3.8.5. ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΚΑΙ ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΟΡΟΛΟΓΙΚΩΝ ΔΟΚΙΜΑΣΙΩΝ**

Οι ευαισθησίες των αντισωμάτων έναντι της γλοιαδίνης (AGA) κυμαίνονται από 76 έως 88% για τα IgG και από 52 έως 91% για τα αντισώματα IgA, ενώ οι αντίστοιχες ειδικότητες ποικίλουν από 88 έως 92% και από 45 έως 94% [266,267,268]. Το μεγαλύτερο πλεονέκτημα της χρήσης των IgG αντισωμάτων έναντι της γλοιαδίνης είναι στους ασθενείς με ανεπάρκεια IgA, μια κατάσταση που είναι πιο συνήθης στους ασθενείς με κοιλιοκάκη σε σύγκριση με τον γενικό πληθυσμό [269,270].

Τα αντισώματα έναντι ενδομυϊού (EMA) της τάξης IgA έχουν πολύ καλύτερη ευαισθησία και ειδικότητα (97 έως 100% και 98 έως 99% , αντίστοιχα) και ένας συνδυασμός των αντισωμάτων έναντι γλοιαδίνης και ενδομυϊού μπορεί να έχει θετική και αρνητική διαγνωστική αξία που να προσεγγίζει το 100% [271].

Σε μια μετα-ανάλυση μελετών για τον προσδιορισμό της ευαισθησίας και της ειδικότητας των ορολογικών αυτών δοκιμασιών προέκυψαν τα ακόλουθα αποτελέσματα[272]. Οι μελέτες προσδιορισμού της ευαισθησίας και της ειδικότητας της δοκιμασίας tTG IgA έχουν δείξει τιμές 77%-100% και 91%-100%, αντίστοιχα. Για τα παιδιά η ευαισθησία κυμαίνεται από 90%-100% και η ειδικότητα από 94%-100% και για τους ενήλικες 77%-100% και 91%-100%, αντίστοιχα. Η δοκιμασία tTG IgG φαίνεται να έχει ευαισθησίες και ειδικότητες που κυμαίνονται από 84%-97% και από 91%-93%, αντίστοιχα. Σ' αυτήν την μεταανάλυση φάνηκε ότι οι δοκιμασίες EMA IgA και ανθρώπινης ανασυνδυασμένης tTG IgA είναι οι πιο ευαίσθητες και ειδικές δοκιμασίες για την αναγνώριση ατόμων που χρειάζεται να υποστούν βιοψία για την διάγνωση της κοιλιοκάκης, ενώ οι ευαισθησίες και οι ειδικότητες για τις δοκιμασίες AGA εκτός από το ότι είναι πολύ ποικίλες είναι και χαμηλότερες από τις EMA IgA και tTG IgA. Στα παιδιά κάτω των 5 ετών η δοκιμασία AGA IgA φαίνεται να είναι πιο ακριβής από την EMA IgA.

Στους πίνακες 6-9 καταγράφονται η ευαισθησία και η ειδικότητα των ορολογικών δοκιμασιών, έτσι όπως έχουν υπολογιστεί στις διάφορες εργασίες.

**Πίνακας 6. Ευαισθησία και ειδικότητα της δοκιμασίας AGA-IgG**

<u>Συγγραφέας</u>	<u>Έτος</u>	<u>Ηλικιακή ομάδα</u>	<u>Ευαισθησία</u>	<u>Ειδικότητα</u>
Canoccio et al [273]	1996	Παιδιά	89	72
Burgin-Wolff et al [274]	1989	Παιδιά	100	84
Burgin-Wolff et al [275]	1991	Παιδιά	89	65
Sacchetti et al [276]	1996	Παιδιά	94	79
Lerner et al [249]	1994	Παιδιά	88	92
Carroccio et al [277]	1993	Παιδιά	96	47
Not et al [278]	1993	Παιδιά	98	91
Rautonen et al [279]	1991	Παιδιά	100	94
Chartrand et al [280]	1997	Παιδιά	83	79
Feighery et al [281]	1998	Ενήλικες	69	71
McMillan et al [282]	1991	Ενήλικες	57	87
Sategna-Guidetti et al [283]	1995	Ενήλικες	78	82
Vogelsang et al [284]	1995	Ενήλικες	73	74
Ascher et al [285]	1996	Μικτή	100	69
Chirido et al [286]	2000	Μικτή	95	87
Berger et al [287]	1996	Αδιευκρίνιστη	82	50
Wolters et al [288]	2002	Αδιευκρίνιστη	83	80

**Πίνακας 7. Ευαισθησία και ειδικότητα της δοκιμασίας AGA-IgA**

Συγγραφέας	Έτος	Ηλικιακή ομάδα	Ευαισθησία	Ειδικότητα
Ribes-Koninckx et al [289]	2000	Παιδιά	88	83
Grodzinsky et al [290]	2001	Παιδιά	81	74
Vitoria et al [267]	1999	Παιδιά	96	97
Chartrand et al [280]	1997	Παιδιά	80	92
Rostami et al [291]	2000	Ενήλικες	60	82
McMillan et al [282]	1991	Ενήλικες	100	100
Sategna-Guidetti et al [283]	1995	Ενήλικες	55	100
Vogelsang et al [284]	1995	Ενήλικες	82	83
Chirido et al [286]	2000	Μικτή	90	92
Wolters et al [288]	2002	Αδιευκρίνιστη	83	86

**Πίνακας 8. Ευαισθησία και ειδικότητα της δοκιμασίας EmA-IgA**

Συγγραφέας	Έτος	Ηλικιακή ομάδα	Ευαισθησία	Ειδικότητα
Bonamico et al [292]	2001	Παιδιά	95	98
Di Leo et al [293]	1999	Παιδιά	100	97
Vitoria et al [267]	1999	Παιδιά	100	100
Picarelli et al [294]	2001	Ενήλικες	100	100
Feighery et al [281]	1998	Ενήλικες	87	99
Mascart-Lemone et al [295]	1995	Ενήλικες	88	100
McMillan et al [282]	1991	Ενήλικες	89	100
Sategna-Guidetti et al [283]	1995	Ενήλικες	100	100
Vogelsang et al [284]	1995	Ενήλικες	100	100
West et al [296]	2002	Ενήλικες	94	100
Tesei et al [297]	2003	Ενήλικες	86	100
Baldas et al [298]	2000	Ενήλικες	93	100
Stem [299]	2000	Μικτή	90	99
Bagnasco et al [300]	1997	Μικτή	100	100
Salmaso et al [301]	2001	Μικτή	100	100
Chirido et al [286]	2000	Μικτή	92	100
Sblattero et al [259]	2000	Μικτή	93	100
Sategna-Guidetti et al [302]	1997	Μικτή	95	100

Πίνακας 9. Ευαισθησία και ειδικότητα της δοκιμασίας tTG-IgA

Συγγραφέας	Έτος	Ηλικιακή ομάδα	Ευαισθησία	Ειδικότητα
Vitoria et al [267]	1999	Παιδιά	100	94
Picarelli et al [294]	2001	Ενήλικες	100	100
Dickey et al [303]	2001	Ενήλικες	77	98
West et al [296]	2002	Ενήλικες	86	91
Tesei et al [297]	2002	Ενήλικες	91	96
Dahele et al [304]	2001	Ενήλικες	81	97
Baldas et al [298]	2000	Μικτή	100	98
Stem [299]	2000	Μικτή	93	95
Salmaso et al [301]	2001	Μικτή	87	95
Fabiani et al [305]	2001	Μικτή	90	96
Seissler et al [306]	1999	Μικτή	96	100
Leon et al [307]	2001	Αδιευκρίνιστη	99	99
Vogelsang et al [284]	1995	Ενήλικες	82	83
Ascher et al [285]	1996	Μικτή	91	98
Chirido et al [286]	2000	Μικτή	90	92

### 3.8.6. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΟΡΟΛΟΓΙΚΩΝ ΔΟΚΙΜΑΣΙΩΝ ΣΤΗ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΚΟΙΛΙΟΚΑΚΗ

Η εκλεκτική IgA ανεπάρκεια έχει συχνότητα στους ασθενείς με κοιλιοκάκη 1,7%-2,6%, η οποία είναι δεκαπλάσια έως δεκαεξαπλάσια από αυτή του γενικού πληθυσμού [270]. Οι ασθενείς με εκλεκτική IgA ανεπάρκεια και κοιλιοκάκη δεν θα έχουν IgA αντισώματα (έναντι ενδομυίου, tTG, γλοιαδίνης), όμως συνήθως έχουν υψηλή συγκέντρωση των IgG αντισωμάτων. Προκειμένου να ανιχνευθεί η κοιλιοκάκη στους ασθενείς με εκλεκτική IgA ανεπάρκεια, θα πρέπει στο σύνολο των εξετάσεων να συμπεριλαμβάνεται και ο προσδιορισμός της ολικής IgA του ορού. Επιπλέον, θα πρέπει να προσδιορίζονται τα IgG αντισώματα [309] (είτε IgG anti-EMA, ή IgG anti-tTG, ή IgG-AGA). Ο συνδυασμός ενός θετικού αποτελέσματος για IgG αντισώματα και της IgA ανεπάρκειας αποτελεί ένδειξη βιοψίας.

Η ποσότητα της γλουτένης που καταναλώνεται από τους ασθενείς αλλάζει τα αποτελέσματα των ορολογικών εξετάσεων, όπως και η χρήση



ανοσοκατασταλτικών. Ένα επίσης μειονέκτημα των ορολογικών δοκιμασιών είναι ότι δεν ανιχνεύουν όλες τις περιπτώσεις κοιλιοκάκης. Οι τίτλοι των αντισωμάτων έναντι ενδομυίου εξαρτώνται από το βαθμό της ατροφίας των λαχνών [244] και την παρουσία συμπτωμάτων[309]. Έτσι ασθενείς με μερική ατροφία μπορεί να μην έχουν αντισώματα έναντι του ενδομυίου [240,310] ή της ιστικής τρανσγλουταμινάσης [304], όμως συνήθως έχουν αντισώματα έναντι της γλοιαδίνης. Παρά το γεγονός ότι η ιστική τρανσγλουταμινάση είναι το αυτοαντιγόνο που αναγνωρίζουν τα αντισώματα έναντι του ενδομυίου, δεν υπάρχει πάντοτε αντιστοιχία μεταξύ των αντισωμάτων έναντι του ενδομυίου και της ιστικής τρανσγλουταμινάσης [303,304,311], το οποίο δεικνύει την χρησιμότητα του συνδυασμού των δύο εξετάσεων καθώς το ένα τρίτο των ασθενών θα έχει μόνο τη μία από τις δύο αυτές εξετάσεις θετική [303].

Οι τίτλοι των αντισωμάτων IgA AGA και IgA-EMA πέφτουν με την δίαιτα ελεύθερη γλουτένης. Τα αντισώματα έναντι ενδομυίου συνήθως είναι μη ανιχνεύσιμα μετά από 6-12 μήνες, όμως μπορεί να χρειαστούν έως και 31 μήνες αν οι αρχικοί τίτλοι ήταν πολύ υψηλοί [244]. Η ορομετατροπή προηγείται της βελτίωσης της εντερικής μορφολογίας [244].

Οι ορολογικές δοκιμασίες έχουν έναν σημαντικό ρόλο στη διαχείριση των ασθενών με κοιλιοκάκη. ( Πίνακας 10)

#### **Πίνακας 10. Ο ρόλος των ορολογικών δοκιμασιών στη διαχείριση των ασθενών με κοιλιοκάκη [234]**

- 
- Ανίχνευση ασθενών στους οποίους η βιοψία είναι απαραίτητη
- 
- Παρακολούθηση της συμμόρφωσης στη δίαιτα
- 
- Προληπτικός έλεγχος- διαλογή- ομάδων υψηλού κινδύνου
-

### 3.9. HLA ΤΥΠΟΠΟΙΗΣΗ

Επειδή περισσότεροι από το 98% των ατόμων με κοιλιοκάκη έχουν τον απλότυπο HLA τάξης II DQ2 ή DQ8, η τυποποίηση για αυτούς τους απλότυπους είναι ιδιαίτερα χρήσιμη για τους ασθενείς όπου τα αποτελέσματα της βιοψίας είναι ασαφή ή ο ορολογικός έλεγχος είναι αρνητικός ή για όσους ασθενείς βρίσκονται ήδη σε μια δίαιτα ελεύθερη γλουτένης. Τα άτομα που δεν έχουν τους απλότυπους HLA-DQ2 ή HLA-DQ8 είναι απίθανο να έχουν κοιλιοκάκη [312].

## **4. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ**

Πολλοί ασθενείς με κοιλιοκάκη έχουν ελάχιστα ή και καθόλου συμπτώματα και έτσι παραμένουν αδιάγνωστοι. Ως εκ τούτου, ο αληθινός επιπολασμός της νόσου δεν είναι γνωστός. Οι περισσότερες μελέτες πιθανότατα υποεκτιμούν τον επιπολασμό της νόσου, ένα φαινόμενο που είναι γνωστό ως το 'παγόβουνο της κοιλιοκάκης'.

### **4.1. ΕΠΙΠΤΩΣΗ ΚΑΙ ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ**

Η κοιλιοκάκη εμφανίζει μια σημαντική γεωγραφική διακύμανση με την υψηλότερη επίπτωση να παρατηρείται στην Δυτική Ευρώπη. Ο επιπολασμός στο μεγαλύτερο μέρος της Ευρώπης εκτιμάται περίπου στο 1:1000 [169] αλλά είναι υψηλότερος στην Δυτική Ευρώπη. Η κατάσταση είναι σημαντικά πιο κοινή μεταξύ των Κελτικών πληθυσμών. Ο επιπολασμός είναι επίσης υψηλός στην Ιταλία, Σουηδία και τη νοτιοανατολική περιοχή της Αυστρίας [169]. Ο επιπολασμός στην Δανία είναι 40 φορές χαμηλότερος από αυτόν στην Σουηδία [63], υποδηλώνοντας έτσι την ύπαρξη σημαντικών διαφορών μεταξύ γεωγραφικά κοντινών πληθυσμών. Η κοιλιοκάκη επίσης, ανευρίσκεται στις χώρες όπου οι Ευρωπαίοι έχουν μεταναστεύσει, κυρίως στη Νότια Αμερική και την Αυστραλία [169]. Αν και η νόσος είναι σπάνια στις νότιες περιοχές της Ινδίας όπου η βάση της διατροφής είναι το ρύζι, ωστόσο στην βορειοδυτική Ινδία, όπου το σάρι έχει αποτελέσει κύριο μέρος της διατροφής για πολλές γενιές, η κοιλιοκάκη είναι παρούσα. Η κατάσταση έχει αναφερθεί στους έγχρωμους, στους Άραβες και στους Ισραηλίτες Εβραίους [313]. Ωστόσο, η κατάσταση είναι σπάνια σε χώρες της Αφρικής, της Καραϊβικής όπως και μεταξύ των κατοίκων της Κίνας και της Ιαπωνίας [169].

### **4.2. ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΤΩΝ ΜΕΛΕΤΩΝ ΣΥΧΝΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ**

Πιο αναλυτικά, τις τελευταίες δεκαετίες πολλές επιδημιολογικές μελέτες έχουν διεξαχθεί για τον προσδιορισμό της συχνότητας της κοιλιοκάκης, και ενδιαφέρουσες απόψεις και διαφωνίες έχουν προκύψει. Οι παλιότερες μελέτες προσδιόριζαν την επίπτωση της κοιλιοκάκης, δηλαδή τα 'νέα' περιστατικά στον πληθυσμό μελέτης κατά

την διάρκεια μιας συγκεκριμένης περιόδου. Μια από τις παλιότερες επιδημιολογικές μελέτες για την κοιλιοκάκη έγινε τη δεκαετία του 1950 υπολόγισε ότι η αθροιστική επίπτωση της νόσου σε Αγγλία και Ουαλία ήταν 1:8000, ενώ για την Σκωτία η αντίστοιχη επίπτωση ήταν 1:4000 [314]. Η διάγνωση τότε βασίζονταν αποκλειστικά στην ανίχνευση των τυπικών συμπτωμάτων και επιβεβαιώνονταν με περίπλοκες και μερικές φορές μη ειδικές δοκιμασίες. Η ευαισθητοποίηση για τη νόσο αυξήθηκε πολύ τη δεκαετία του 1960, όταν πιο ειδικές δοκιμασίες δυσαπορρόφησης και η βιοψία με κάψουλα έγιναν διαθέσιμες [315]. Κατά συνέπεια αυξημένη συχνότητα της νόσου (που έφτανε και τις τιμές του 1:450-500) αναφέρθηκε σε μελέτες από την Ιρλανδία [316], τη Σκωτία [317] και την Ελβετία [318]. Αυτή η αυξημένη επίπτωση της κοιλιοκάκης σηματοδοτούσε και μια αλλαγή στις διατροφικές συνήθειες, βασιζόμενη στην υπόθεση ότι καθυστερημένη έκθεση στην γλουτένη θα προλάμβανε την εμφάνιση της κοιλιοκάκης. Για πρώτη φορά μια μείωση στην επίπτωση της κοιλιοκάκης σημειώθηκε σε Αγγλία και Ιρλανδία μετά από την καθυστερημένη εισαγωγή της γλουτένης στο διαιτολόγιο των βρεφών [319,320,321,]. Δυστυχώς αυτή η μείωση ήταν απατηλή καθώς επακόλουθες μελέτες έδειξαν ότι η μείωση στις τυπικές περιπτώσεις των βρεφών είχε αντιρροπιστεί από την αύξηση των άτυπων περιστατικών κοιλιοκάκης όπου η έναρξη των συμπτωμάτων χρονολογείται σε μεγαλύτερης ηλικίας παιδιά ή και στην ενήλικη ζωή [322]. Επειδή έχουν αναπτυχθεί ευαίσθητες ορολογικές δοκιμασίες, έχει γίνει πρόσφατα εφικτό να υπολογιστεί ο επιπολασμός της κοιλιοκάκης (ο αριθμός των προσβεβλημένων ατόμων, συμπεριλαμβανομένων και των υποκλινικών μορφών, σε έναν καθορισμένο πληθυσμό μια συγκεκριμένη στιγμή). Μελέτες ομαδικού ελέγχου του γενικού πληθυσμού, έδειξαν υψηλό επιπολασμό της κοιλιοκάκης τόσο σε υγιή παιδιά [323] όσο και σε ενήλικες [324]. Ο επιπολασμός της κοιλιοκάκης στην Ευρώπη φάνηκε να είναι πιο ομοιογενής από ότι πιστεύονταν παλαιότερα. Επιπλέον αυτές οι μελέτες έδειξαν ότι η κοιλιοκάκη είναι ένα από τα πιο συχνά γενετικά καθοριζόμενα νοσήματα [325] που έχει συχνότητα 1 προς 130-300 στο γενικό πληθυσμό [326].

#### 4.3. ΟΙ ΝΕΩΤΕΡΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ ΣΕ ΔΥΤΙΚΗ ΕΥΡΩΠΗ ΚΑΙ ΒΟΡΕΙΑ ΑΜΕΡΙΚΗ

Ο επιπολασμός της κοιλιοκάκης σε γενικούς μη επιλεγμένους πληθυσμούς της Βόρειας Αμερικής και της Δυτικής Ευρώπης, όπως έχει εκτιμηθεί ορολογικά κυμαίνεται ευρέως από 152 ανά 100.000 (0,152% ή 1:658) έως 2.670 ανά 100.000 (2,67% ή 1:37). Ο επιπολασμός όπως έχει υπολογιστεί βάσει βιοψίας κυμαίνεται από 152 ανά 100.000 (0,152% ή 1:658) έως 1.870 ανά 100.000 ( 1,87% ή 1:53) [327]. Μεταξύ των μελετών που έχουν γίνει στις ΗΠΑ [157,328,329], ο επιπολασμός κυμαίνεται από 0,312% (ή 1:320) έως 0,949% (ή 1:105). Η μεγαλύτερη από αυτές που διενεργήθηκε από τους Fasano και συν. [328] βρήκε ότι ο επιπολασμός της κοιλιοκάκης σε πληθυσμούς χαμηλού κινδύνου είναι 0,95% στους ενήλικες, 0,31% στα παιδιά και 0,75% συνολικά (ή 1:133). Αυτή η μελέτη συμπεριέλαβε κατά κύριο ρόλο Καυκάσιο πληθυσμό αν και άλλες εθνικές ομάδες μετείχαν ( 94% Καυκάσιοι, 3% Αфро-Αμερικανοί, 1,5% Ισπανοί, 1% Ασιάτες, 0,5% άλλοι). Οι Not και συν. [329] εκτίμησαν τον επιπολασμό με επιβεβαίωση με αντισώματα έναντι EMA αφού είχε γίνει η αρχική διαλογή με αντισώματα AGA να είναι 0,4% (ή 1:250) σε έναν κατά κύριο λόγο Καυκάσιο πληθυσμό που επίσης περιέλαβε και άλλες εθνικότητες ( Καυκάσιοι 87%, Αфро-Αμερικάνοι 11,5% και Ασιάτες 1,5%). Τέλος οι Green και συν. [157] βρήκαν έναν επιπολασμό 0,5% (ή 1:200) σε 1.749 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε γαστροσκόπηση. Η αιτία της αρχικής ενδοσκόπησης στην μελέτη δεν είχε περιγραφεί σαφώς και μόνο όσοι ασθενείς είχαν ενδοσκοπικά χαρακτηριστικά που παρέμπεσαν σε πιθανή κοιλιοκάκη υφίσταντο βιοψία, η οποία μπορεί να έχει υποεκτιμήσει τον επιπολασμό της κοιλιοκάκης.

Ο επιπολασμός της κοιλιοκάκης μεταξύ των 7 ιταλικών μελετών είναι όμοιος με αυτόν των αμερικάνικων μελετών δείχνοντας μια διακύμανση από 0,2% έως 0,94% [330,331,332,333,334,335,336]. Σε μια πρόσφατη μεγάλη μελέτη από τους Tommasini και συν. [330] σε 3.188 παιδιά σχολικής ηλικίας ο επιπολασμός της κοιλιοκάκης ήταν 1:106, ο οποίος είναι όμοιος με αυτόν που έχει αναφερθεί από τους Fasano και συν.[328] στους χαμηλού κινδύνου ενήλικες Αμερικανούς, αλλά υψηλότερος από τον επιπολασμό για τα παιδιά.

Μόνο 4 μελέτες έδειξαν επιπολασμό της κοιλιοκάκης μεγαλύτερο του 1,5%, από την Αγγλία [337], τη Σουηδία [338,339] και τη Γερμανία [340] και 6 ακόμη μελέτες έδειξαν έναν επιπολασμό μεταξύ του 1.0% και 1.5% από την Αγγλία [341], την Σουηδία [342], την Ολλανδία [343], την Ιρλανδία [344], και την Φινλανδία [326,345]. ( Πίνακας 11)

Ο επιπολασμός της κοιλιοκάκης στις ομάδες υψηλού κινδύνου όπως έδειξε η μετα-ανάλυση των σχετικών μελετών [327], κυμαίνεται στους ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου Ι από 3% έως 6%, στους πρώτου βαθμού συγγενείς ασθενών με κοιλιοκάκη έως και 20%, στα άτομα με συμπτωματική σιδηροπενική αναιμία από 10% έως 15%, στα ασυμπτωματικά άτομα με σιδηροπενική αναιμία από 3% έως 6% και στους ασθενείς με οστεοπόρωση από 1% έως 3%.

**Πίνακας 11.** Ο επιπολασμός της κοιλιοκάκης σε διάφορες χώρες.

Μελέτη	Χώρα	Ηλικιακή ομάδα	Δοκιμασία	Αριθμός δειγμάτων	Επιπολασμός
Fasano 2003 [328]	ΗΠΑ	Ενήλικες	EMA-ME, όλα τα θετικά δείγματα ελέγχονταν με h-tTG HU	2.845	0,00949
Green, 2000 [157]	ΗΠΑ	Ενήλικες	Βιοψία	1.749	0,00515
Not, 1998 [329]	ΗΠΑ	Ενήλικες	IgG και IgA AGA ELISA, επιβεβαίωση με IgA EMA ME ή HU	2.000	0,004
Fasano, 2003 [328]	ΗΠΑ	Παιδιά		1.281	0,00312
Johnston, 1998 [337]	Αγγλία	Ενήλικες	IgA-AgA, IgA-EMA	1.823	0,00823
Sanders, 2003 [346]	Αγγλία	Ενήλικες	IgG και IgA AGA ELISA, EMA-ME	1.200	0,01000
West, 2003 [341]	Αγγλία	Ενήλικες	IgA-EMA-ME, IgA-tTG	7.527	0,01156



Μελέτη	Χώρα	Ηλικιακή ομάδα	Δοκιμασία	Αριθμός δειγμάτων	Επιπολασμός
Rutz, 2002 [347]	Ελβετία	Παιδιά	IgA-EMA-ME, IgA-tTG, IgG-AGA και IgA-AGA	1.450	0,00690
Borch, 2001 [339]	Σουηδία	Ενήλικες	Βιοψία, IgA-AGA IgG-AGA, IgA-EMA-ME	482	0,01867
Grodzinsky, 1992 [324]	Σουηδία	Ενήλικες	IgA-AGA, IgA-EMA	1.866	0,00375
Ivarsson, 1999 [348]	Σουηδία	Ενήλικες	IgA- και IgG-AGA ELISA, IgA-EMA-ME, επίπεδα IgA ορού	1.894	0,00475
Sjoberg, 1994 [342]	Σουηδία	Ενήλικες	IgG και IgA AGA	1.537	0,00065
Sjoberg, 1999 [349]	Σουηδία	Ενήλικες	IgA-AGA επιβεβαίωση με IgA-EMA-ME	1.970	0,00152
Carlsson, 2001 [338]	Σουηδία	Παιδιά	AGA, EMA, βιοψία	690	0,01594
Riestra, 2000 [350]	Ισπανία	Ενήλικες	IgA/IgG –AGA, IgA-EMA,	1.170	0,00256
Corazza, 1997 [351]	Σαν Μαρίνο	Ενήλικες	IgA-EMA, βιοψία	559	0,00179
Hovdenak, 1999 [352]	Νορβηγία	Ενήλικες	IgA και IgG-AGA, IgA-EMA	2.069	0,00338
Rostami, 1999 [353]	Ολλανδία	Ενήλικες	IgA-EMA	1.000	0,00300
Csizmadia, 1999 [343]	Ολλανδία	Παιδιά	IgA-EMA	6.127	0,00506
Pittschieler, 1996 [354]	Ιταλία	Ενήλικες	IgA και IgG-AGA, IgA-EMA, βιοψία	4.615	0,00195
Trevisiol, 1999 [334]	Ιταλία	Ενήλικες	IgA-EMA, βιοψία	4.000	0,00250
Volta, 2001 [335]	Ιταλία	Ενήλικες (κυρίως)	IgA-EMA-HU, βιοψία	3.483	0,00488

Μελέτη	Χώρα	Ηλικιακή ομάδα	Δοκιμασία	Αριθμός δειγμάτων	Επιπολασμός
Catassi, 2000 [331]	Ιταλία	Παιδιά	IgA και IgG-AGA, IgA-EMA, βιοψία	2.096	0,0859
Catassi, 1996 [336]	Ιταλία	Παιδιά	IgA ή IgG-AGA, επιβεβαίωση με IgA-EMA, και βιοψία	17.201	0,00477
Dickey, 1992 [344]	Ιρλανδία	Ενήλικες	IgA-A-GA	443	0,001129
Jager, 2001 [340]	Γερμανία	Μικτός	IgA-AGA, IgG-AGA, IgA-tTG	150	0,02667
Kolho, 1998 [326]	Φινλανδία	Ενήλικες	EMA-HU	1.070	0,00748
Maki, 2004 [355]	Φινλανδία	Παιδιά	IgA και IgG tTG, IgA και IgG EMA, επίπεδα IgA, προσδιορισμός HLA-DR, DQ2 και DQ8	3.654	0,00739
Collin, 2002 [356]	Φινλανδία	Μικτός	Βιοψία	2.974	0,00605
Weile, 2001 [357]	Δανία και Σουηδία	Ενήλικες	IgA ορού, IgA-AGA, IgG-AGA, IgA-EMA	1.573	0,00254
Ο επιπολασμός εκφράζεται ως αναλογία ( πολλαπλασιασμός επί 100 για % αναλογία, ή επί 100.000 για να βρεθεί η αναλογία ανά 100.000 πληθυσμού)					

Στην Ελλάδα, αναφορικά με τη συχνότητα της κοιλιοκάκης υπάρχει μόνο μια εργασία ( letter to the editor) που στηρίζεται σε αναδρομικό έλεγχο ενδοσκοπικού υλικού και την ανεβάζει σε ποσοστό 1:520 [13]. Δεν υπάρχει μελέτη που να έχει γίνει σε γενικό ελληνικό πληθυσμό και αυτό το κενό έρχεται να καλύψει αυτή η εργασία.

## **Β. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

## 1. ΥΛΙΚΟ

### 1.1. ΕΠΙΛΟΓΗ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ

Το πληθυσμό μελέτης αποτέλεσαν 2.230 ενήλικα άτομα που επιλέχθηκαν από το γενικό Θεσσαλικό πληθυσμό. Με βάση τη βιβλιογραφικά καταγεγραμμένη συχνότητα της νόσου (1%), το μέγεθος του δείγματος από το Θεσσαλικό πληθυσμό, που θα μπορούσε να αναδείξει παρεμφερή συχνότητα σε όρια εμπιστοσύνης 95% ( 0,5-1,5% ) υπολογίστηκε σε >2.000 ( 2.000 C.I 95% = 0,612-1,54), άρα το μέγεθος του πληθυσμού της μελέτης βρίσκεται στα όρια στατιστικής σημαντικότητας.

Σύμφωνα με την τελευταία απογραφή του 2001, ο συνολικός πληθυσμός, όλων των ηλικιών, της Θεσσαλίας είναι 753.888 (Νομός Καρδίτσας 129.541, νομός Λαρίσης 279.541, νομός Μαγνησίας 206.995, νομός Τρικάλων 138.047). Η επιλογή έγινε με τυχαία συστηματική δειγματοληψία, με βάση τα μητρώα του Ληξιαρχείου της Θεσσαλίας, και συγκεκριμένα τριών απομακρυσμένων μεταξύ τους περιοχών των νομών Τρικάλων και Λάρισας, των περιοχών Γόννων Λάρισας, Φαρκαδώνας Τρικάλων, Πύλης Τρικάλων (στις οποίες συνολικά περιλήφθηκε ο πληθυσμός 20 χωριών) **και της πόλης της Λάρισας.**

Περιλήφθηκαν άτομα ηλικίας από 18 έως και 80 ετών, που κατοικούν μόνιμα στο γεωγραφικό διαμέρισμα της Θεσσαλίας. Το δείγμα επελέγη με συστηματική τυχαιοποίηση με τη χρήση λίστας τυχαίων αριθμών από ένα στατιστικό πρόγραμμα ηλεκτρονικού υπολογιστή. Αρχικά είχαν προσκληθεί για να συμμετάσχουν 3.000 άτομα και από αυτά συναίνεσε και συμμετείχε ποσοστό 75%, χωρίς αυτό να αλλάξει τη σύσταση του πληθυσμού ως προς το φύλο και την ηλικία. Η λήψη των δειγμάτων έγινε κατά τα έτη από το 2002-2005. Απαραίτητη ήταν η προφορική συγκατάθεση συμμετοχής στη μελέτη, αφού είχε περιγραφεί σαφώς ο σκοπός της μελέτης.

Υπήρξε έγκριση του πρωτοκόλλου της μελέτης από την επιτροπή Ηθικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου της Λάρισας

Από κάθε άτομο από τα 2.230 της μελέτης, συνελέγει δείγμα ορού το οποίο και αποθηκεύτηκε σε θερμοκρασία -20°C, μέχρι και το χρόνο του εργαστηριακού ελέγχου.

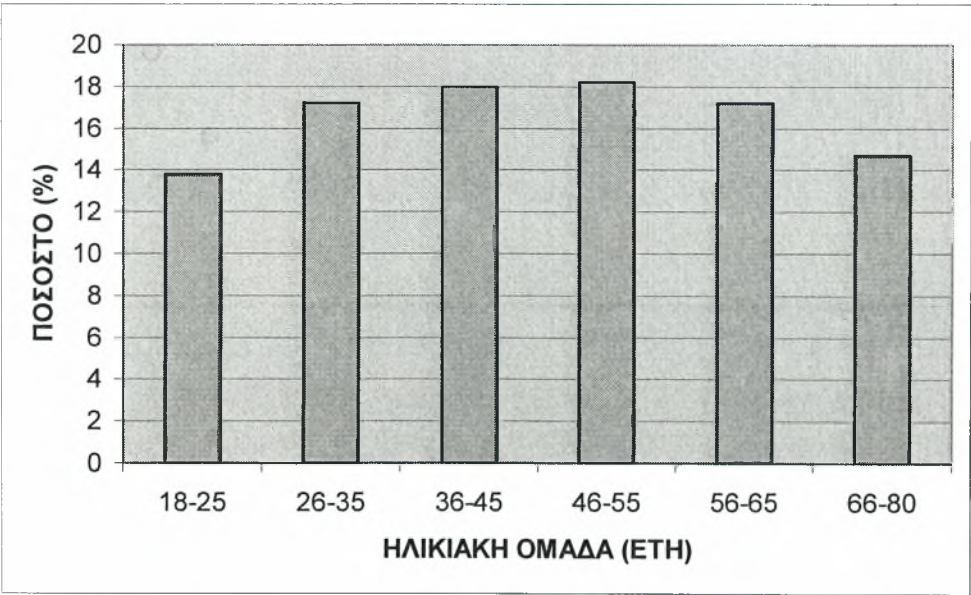
1.2. ΔΗΜΟΓΡΑΦΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η κατανομή κατά ηλικία και φύλο φαίνεται στον πίνακα 12 και στην εικόνα 10. Οι γυναίκες ήταν 1.226 (55%) και οι άνδρες 1.004 (45%), με ομοιογένεια στην κατανομή κατά φύλο και ηλικία. Η μέση ηλικία των ατόμων που συμμετείχαν στη μελέτη είναι τα 46 έτη και εύρος ηλικιών, όπως έχει προαναφερθεί 18-80 έτη.

Πίνακας 12. Κατανομή κατά ηλικία και φύλο του πληθυσμού μελέτης.

Ηλικία		Ηλικιακή ομάδα ( έτη )					
18-80 έτη		18-25	26-35	36-45	46-55	56-65	>66
Γυναίκες							
1.226 ( 55% )		170	212	220	232	211	180
Άνδρες							
1.004 ( 45% )		138	175	180	190	174	148
Σύνολο	2.230	308	387	400	422	385	328

Εικόνα 10. % κατανομή του πληθυσμού μελέτης στις ηλικιακές ομάδες.

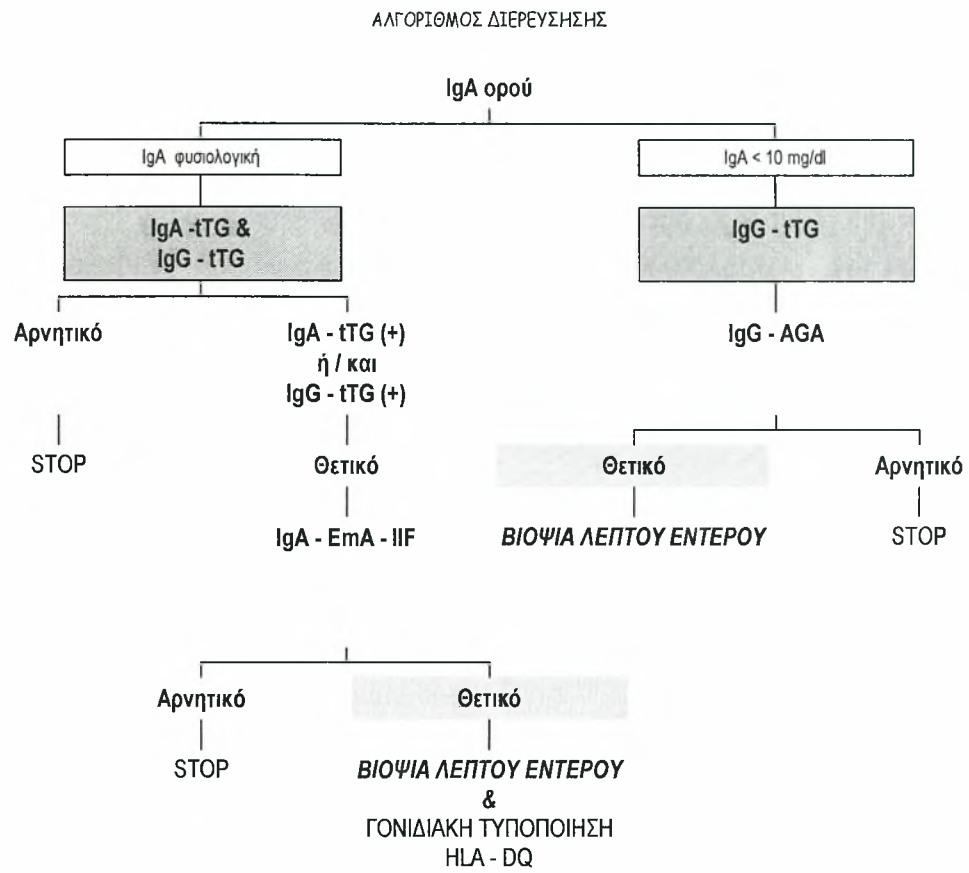


## 2.ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΟΜΑΔΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ

Από κάθε άτομο συλλεγόταν και αποθηκευόταν σε βαθιά κατάψυξη, μέχρι το χρόνο των αντίστοιχων προσδιορισμών, ένα δείγμα ορού (3 aliquots). Αρχικά, σε όλα τα δείγματα πραγματοποιούνταν νεφελομετρικός προσδιορισμός της συγκέντρωσης της ανοσοσφαιρίνης IgA του ορού με σκοπό την ανίχνευση ατόμων με εκλεκτική ανεπάρκεια IgA. Επί φυσιολογικής IgA ανοσοσφαιρίνης, ακολουθούσε προσδιορισμός των IgA και IgG αντισωμάτων έναντι κεκαθαρμένης ιστικής τρανσγλουταμινάσης από ανθρώπινα ερυθροκύτταρα (αντι-htTG) με τη μέθοδο της ELISA. Στα θετικά δείγματα για τα αντισώματα έναντι ιστικής τρανσγλουταμινάσης, προσδιορίζονταν τα έναντι ενδομυϊού IgA αντισώματα (EmA) με έμμεσο ανοσοφθορισμό. Επί εκλεκτικής ανεπάρκεια IgA, γινόταν ανίχνευση των αντισωμάτων IgG έναντι της ιστικής τρανσγλουταμινάσης (IgG αντι-htTG) με τη μέθοδο της ELISA καθώς και των αντισωμάτων IgG έναντι της γλοιαδίνης (IgG-AGA) με τη μέθοδο της ELISA επίσης. Στα άτομα που ανευρίσκονταν θετικά είτε για τα IgA αντισώματα έναντι ενδομυϊού είτε για τα IgG αντισώματα έναντι γλοιαδίνης, προτείνονταν βιοψία λεπτού εντέρου και πραγματοποιούνταν HLA τυποποίηση. Η βιοψία του λεπτού εντέρου πραγματοποιούνταν κατά τη διάρκεια ενδοσκοπικού ελέγχου του ανώτερου πεπτικού συστήματος. Η ιστολογική βλάβη ταξινομούταν με βάση τη σταδιοποίηση κατά Marsh.



**Εικόνα 11.0** αλγόριθμος διερεύνησης της μελέτης.



## **2.1. ΑΝΟΣΟΝΕΦΕΛΟΜΕΤΡΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΟΛΙΚΗΣ IGA ΤΟΥ ΟΡΟΥ**

Ο ανοσονεφελομετρικός προσδιορισμός της ολικής IgA του ορού πραγματοποιήθηκε σε όλα τα άτομα που συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη. Η αρχή της μεθόδου έχει, περιληπτικά ως εξής:

Ο ανοσονεφελομετρικός προσδιορισμός της συγκέντρωσης της ολικής IgA ανοσοσφαιρίνης του ορού στηρίζεται στη σχέση της πρωτεΐνης με την ένταση του σκεδαζόμενου φωτός από τα συμπλέγματα που σχηματίζονται μεταξύ της πρωτεΐνης (αντιγόνου) και του προστιθέμενου αντίστοιχου αντισώματος. Ο σχηματισμός των συμπλεγμάτων αυτών αρχίζει μέσα σε msec και είναι δυνατό να διαρκέσει για ώρες. Το γεγονός αυτό συνεπάγεται συνεχή μεταβολή του μοριακού βάρους, του μεγέθους και της συγκέντρωσης των συμπλεγμάτων, και για το λόγο αυτό η ανοσονεφελομετρία προτυποποίησε τους χρόνους μέτρησης, αναφορικά με τα συγκεκριμένα συστήματα αντιγόνου - αντισώματος, ώστε να επιτευχθεί η καλύτερη δυνατή συσχέτιση με τη συγκέντρωση του αντιγόνου.

Ο προσδιορισμός της IgA ανοσοσφαιρίνης έγινε με την κινητική μέθοδο. ( BN II; DADE-Behring, Marburg, Germany). Τιμές ολικής IgA ανοσοσφαιρίνης μικρότερες των 10 mg/dl αξιολογούνταν ως ανεπάρκεια της συγκεκριμένης πρωτεΐνης.

## **2.2. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ IGA ΚΑΙ IGG ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΕΝΑΝΤΙ ΤΗΣ ΙΣΤΙΚΗΣ ΤΡΑΝΣΓΛΟΥΤΑΜΙΝΑΣΗΣ (h-tTG)**

Για τους ποσοτικούς προσδιορισμούς της συγκέντρωσης στον ορό αίματος τόσο των IgA όσο και των IgG αντισωμάτων έναντι της ιστικής τρανσγλουταμινάσης, χρησιμοποιήθηκε ενζυμική ανοσοπροσροφητική μέθοδος προσδιορισμού, [enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)] ( INOVA ELISA QUANTA Lite™ h-tTG IgA & IgG).

### **2.2.1. Αρχή μεθόδου**

Το κεκαθαρμένο φυσικό ανθρώπινο αντιγόνο h-tTG, απομονωμένο από τα ερυθρά αιμοσφαίρια είναι συνδεδεμένο στα πηγαδάκια της μικροπλάκας από πολυστυρένιο υπό συνθήκες όπου διατηρούνται οι φυσικοχημικές ιδιότητές του. Προαρχιωμένοι πρότυποι οροί ελέγχου (

controls) και αραιωμένα δείγματα ασθενών προσθέτονται στα πηγαδάκια επιτρέποντας στα h-tTG IgG ή IgA αντισώματα να συνδεθούν με το ακινητοποιημένο αντιγόνο. Μη αντιδρώντα αντισώματα ξεπλένονται και προσθέτεται αντι- ανθρώπινο IgG ή IgA αντίσωμα συνδεδεμένο με ένζυμο. Η δεύτερη επώαση επιτρέπει τη σύνδεση αντι- ανθρώπινου IgG ή IgA αντισώματος με τα σχηματισμένα συμπλέγματα αντισώματος - ακινητοποιημένου αντιγόνου. Στη συνέχεια η προσθήκη υποστρώματος υπεροξειδάσης προκαλεί χρωματική αλλαγή ανάλογη με την συγκέντρωση των αντισωμάτων. Μετά τη διακοπή της ενζυμικής παραγωγής χρώματος, η παρουσία ή η απουσία αντισωμάτων συγκρίνεται με την οπτική πυκνότητα των προτύπων ορών αναφοράς.

### **2.2.2. Μεθοδολογία**

Πριν την έναρξη της διαδικασίας όλα τα δείγματα και τα αντιδραστήρια θα πρέπει να βρίσκονται σε θερμοκρασία δωματίου (20<sup>0</sup>-26<sup>0</sup> C) και να έχουν αναδευτεί καλά. Το συμπυκνωμένο HRP διάλυμα πλύσεων 1:40 (25 ml) αραιώνεται προσθέτοντας το περιεχόμενο του φιαλιδίου σε 975 ml απεσταγμένου νερού. Τα δείγματα υπό εξέταση αραιώνονται 1:101 προσθέτοντας 5 μl ορού σε 500μl HRP αραιωτικό δείγματος. Για την αποτελεσματικότερη ακρίβεια των αποτελεσμάτων εφαρμόζεται η εις διπλούν τοποθέτηση όλων των διαλυμάτων αναφοράς, προτύπων ορών ελέγχου και δειγμάτων.

### **2.2.3. Διαδικασία**

Αρχικά προστίθενται 100μl προτύπων ορών ελέγχου, υψηλού θετικού, χαμηλού θετικού, και αρνητικού και των υπό έλεγχο αραιωμένων δειγμάτων στις προκαθορισμένες θέσεις. Η μικροπλάκα καλύπτεται και επωάζεται για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Ο χρόνος επώασης ξεκινάει με την προσθήκη του τελευταίου δείγματος. Στη συνέχεια η πλάκα πλένεται προσθέτοντας 200-300μl αραιωμένου HRP διαλύματος πλύσεων σε κάθε πηγαδάκι. Η διαδικασία αυτή πλύσης επαναλαμβάνεται σε σύνολο τρεις φορές. Στο τέλος της διαδικασίας η μικροπλάκα πρέπει να είναι απόλυτα στεγνή και αυτό επιτυγχάνεται αναποδογυρίζοντας την και τινάζοντάς την ελαφρά πάνω σε απορροφητικό χαρτί. Ακολούθως, προστίθενται 100 μl HRP IgG ή IgA συζεύγματος σε όλα τα πηγαδάκια. Η μικροπλάκα επωάζεται για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Επαναλαμβάνεται η διαδικασία πλύσεων όπως περιγράφηκε παραπάνω. Προστίθενται 100 μl TMB χρωμογόνου και επωάζεται η μικροπλάκα για 30 λεπτά σε σκοτεινό μέρος. Τέλος, προστίθενται 100 μl HRP διαλύματος διακοπής της αντίδρασης σε όλα

τα πηγαδάκια. Η μέτρηση της οπτικής πυκνότητας των δειγμάτων πρέπει να γίνεται εντός μιας ώρας από το τέλος της διαδικασίας, σε φωτόμετρο στα 405nm με φίλτρο αναφοράς 620 nm προαιρετικά.

#### **2.2.4. Ποιοτικός έλεγχος**

Οι θετικοί και ο αρνητικός πρότυποι οροί ελέγχου πρέπει να χρησιμοποιούνται σε κάθε ανοσοενζυμική διαδικασία έτσι ώστε να εξασφαλίζεται ότι τα αντιδραστήρια και οι διαδικασίες λειτουργούν σωστά.

Για να θεωρηθούν τα αποτελέσματα έγκυρα θα πρέπει να ισχύουν τα παρακάτω κριτήρια. Στην περίπτωση που κάποιο κριτήριο δεν ισχύει τότε θα πρέπει να επαναλαμβάνεται η διαδικασία.

1. Η απορρόφηση του υψηλού θετικού πρότυπου ορού ελέγχου ( high positive) θα πρέπει να είναι μεγαλύτερη από την απορρόφηση του χαμηλού θετικού πρότυπου ορού ελέγχου ( low positive) η οποία θα πρέπει να είναι μεγαλύτερη από την απορρόφηση του αρνητικού πρότυπου ορού ελέγχου.
2. Η απορρόφηση του υψηλού θετικού πρότυπου ορού ελέγχου ( high positive) θα πρέπει να είναι μεγαλύτερη από 0,7 ενώ η απορρόφηση του αρνητικού πρότυπου ορού ελέγχου δεν θα πρέπει να υπερβαίνει το 0,2.
3. Η απορρόφηση του χαμηλού θετικού πρότυπου ορού ελέγχου ( low positive) θα πρέπει να είναι μεγαλύτερη από το διπλάσιο της απορρόφησης του αρνητικού πρότυπου ορού ελέγχου ή μεγαλύτερη από 0,25.
4. Ο αρνητικός και ο υψηλός έλεγχος δείχνουν την εγκυρότητα της διαδικασίας. Ο υψηλός θετικός δεν αντιστοιχεί στο σημείο αποκοπής της μεθόδου ( cutoff).

#### **2.2.5. Υπολογισμός αποτελεσμάτων**

Υπολογισμός της μέσης τιμής σε όλες τις εις διπλούν μετρήσεις της οπτικής πυκνότητας των δειγμάτων. Η δραστηκότητα κάθε δείγματος μπορεί να υπολογιστεί διαιρώντας τον μέσο όρο της οπτικής πυκνότητας του δείγματος με τον μέσο όρο της οπτικής πυκνότητας του χαμηλού θετικού πρότυπου ορού ελέγχου ( low positive) και πολλαπλασιάζοντας το πηλίκο με την τιμή σε IU/ml ή WHO units/ml οι οποίες αναφέρονται πάνω στο φιαλίδιό του.

$$\frac{\text{Τιμές δείγματος}}{\text{Ελέγχου}} \times \text{h-tTG ορού} = \frac{\text{Ο.Α. δείγματος}}{\text{Ο.Α. h-tTG ορού ελέγχου}} \times \text{h-tTG ορού}$$

(μονάδες) (μονάδες)

Η αντίδραση είναι σε συνάρτηση ( όχι γραμμική σχέση ) της ποσότητας των αντισωμάτων. Η αύξηση ή μείωση της συγκέντρωσης των αντισωμάτων του ασθενή θα επηρεάσει την ανταπόκριση της αντίδρασης αλλά όχι αναλογικά ( διπλασιασμός της συγκέντρωσης δεν θα διπλασιάσει την αντίδραση). Για ακριβέστερο ποσοτικό προσδιορισμό αντισωμάτων του ασθενούς απαιτούνται διαδοχικές αραιώσεις του δείγματος και η τελευταία θετική αραιώση θα χαρακτηριστεί σαν τίτλος αντισωμάτων.

Κάθε εργαστήριο πρέπει να καθορίσει τις δικές του τιμές αναφοράς βάσει των τεχνικών, ελέγχων, πληθυσμού, κ.λ.π. Το Εργαστήριο Ανοσολογίας και Ιστοσυμβατότητας του Π.Π.Γ.Ν.Λάρισας έχει προσδιορίσει τις δικές του τιμές αναφοράς ( cutoff values) ως εξής για τη δοκιμασία προσδιορισμού h-tTG IgA:

Αρνητικό	< 25,4 μονάδες
Θετικό	> 25,4 μονάδες

Ενώ για τη δοκιμασία προσδιορισμού των h-tTG IgG αντισωμάτων χρησιμοποιήσαμε τις τιμές που δίνει η κατασκευάστρια εταιρία. Έτσι το δείγμα μπορεί να χαρακτηριστεί σαν αρνητικό, ασθενές θετικό, ισχυρώς θετικό.

Αρνητικό	< 20 μονάδες
Ασθενώς θετικό	20 -30 μονάδες
Ισχυρώς θετικό	> 30 μονάδες

### 2.3. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ IGG ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΕΝΑΝΤΙ ΤΗΣ ΓΛΟΙΑΔΙΝΗΣ.

Η ανίχνευση των αντισωμάτων IgG έναντι της γλοιαδίνης ( AGA ) έγινε με τη μέθοδο της ELISA, με τη χρήση του INOVA ELISA QUANTA Lite™ Gliadin IgG, όπως περιγράφηκε και παραπάνω για τα αντισώματα έναντι της τρανσγλουταμινάσης, προσαρμοσμένη βέβαια στις απαιτήσεις της συγκεκριμένης εξέτασης. Έτσι, στα πηγαδάκια της

μικροπλάκας από πολυστυρένιο είναι συνδεδεμένο το κεκαθαρμένο αντιγόνο γλοιαδίνης.

Τα δείγματα ταξινομούνται ως αρνητικά, ασθενώς θετικά, μετρίως θετικά ή ισχυρώς θετικά σύμφωνα με τον ακόλουθο πίνακα:

<u>Δείγμα</u>	<u>Μονάδες</u>
Αρνητικό	< 20
Ασθενώς θετικό	20 – 30
Μετρίως θετικό προς	
Ισχυρώς θετικό	> 30

Το cutoff της μεθόδου σύμφωνα με την κατασκευάστρια εταιρία είναι οι 20 μονάδες.

#### **2.4. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ IGA ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ENANTI ΤΟΥ ΕΝΔΟΜΥΙΟΥ (EMA)**

Τα IgA-EmA αντισώματα του ορού ανιχνεύονταν με την τεχνική του έμμεσου ανοσοφθορισμού με τη χρήση εμπορικού kit. Ως υπόστρωμα της δοκιμασίας χρησιμοποιήθηκε απώτερο τμήμα οισοφάγου πιθήκου (INOVA Diagnostics, Inc, San Diego, Calif).

Οι κρυστατικές τομές του οισοφάγου επωάζονταν για 30 λεπτά με τα υπό εξέταση δείγματα ορού σε αραιώση 1:5. Μετά από πλύση, οι τομές επωάζονταν σε σημασμένα με φλουορεσκεΐνης αντι ανθρώπινα IgA αντισώματα για 30 λεπτά. Οι τομές μετά πλένονταν και πάλι και ακολουθούσε εξέταση με φθορίζουσα μικροσκοπία. Ο φθορισμός του ενδομυϊού γύρω από τις λείες μυϊκές ίνες αξιολογείται ως θετικό δείγμα. Εάν ένα δείγμα ήταν θετικό ακολουθούσαν περαιτέρω αραιώσεις 1:20, 1:40, κ.λ.π. Γινόταν σύγκριση με ένα ισχυρώς θετικό δείγμα ελέγχου. Δείγματα με τίτλους IgA EMA αντισωμάτων άνω του 1 : 5 θεωρήθηκαν θετικά. Ο έλεγχος των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε από τον ίδιο εξεταστή.

#### **2.5. HLA – ΤΥΠΟΠΟΙΗΣΗ**

Η γονιδιακή HLA – τυποποίηση έγινε σε όλους τους ασθενείς με βιοψία συμβατή με κοιλιοκάκη. Χρησιμοποιήθηκε δείγμα ολικού



αίματος. Ο προσδιορισμός έγινε με τη μέθοδο PCR-SSP. Η αρχή της μεθόδου έχει περιληπτικά ως εξής: Η γονιδιακή τυποποίηση των HLA τάξης II αντιγόνων (DQA1, DQB1) επιτυγχάνεται μετά από την εκχύλιση του DNA (DNA extraction) του ασθενούς με την τεχνική της εξαλάτωσης (salt out) και την ενίσχυση του (DNA amplification) με την τεχνική της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (polymerase chain reaction, PCR) και την χρήση εκκινητών ειδικών για τις αλληλουχίες των HLA - αλληλίων (sequence-specific primers, SSP) [358].

## 2.6. ΒΙΟΨΙΑ ΛΕΠΤΟΥ ΕΝΤΕΡΟΥ

Όσα άτομα ανευρίσκονταν θετικά για τα αντισώματα IgA EmA ενημερώνονταν για την υψηλή πιθανότητα να έχουν κοιλιοκάκη και τους προτείνονταν βιοψία λεπτού εντέρου. Μετά από τη συναίνεσή τους οι βιοψίες λαμβάνονταν ενδοσκοπικά από το άπω 12δάκτυλο ή/και την εγγύς νήστιδα. Όλες οι ενδοσκοπήσεις εκτελούνταν από δύο έμπειρους ενδοσκόπους. Τουλάχιστον τέσσερα δείγματα λαμβάνονταν από κάθε ασθενή. Τα δείγματα του βλεννογόνου τοποθετούνταν πάνω σε ένα κομμάτι διηθητικού χαρτιού (cellulose nitrate-acetate), παρέχοντας το σωστό προσανατολισμό για τις τομές.

### 2.6.1. Παθολογοανατομική - Ιστολογική εξέταση

Τα δείγματα βλεννογόνου ταξινομούνται σύμφωνα με τα προκαθορισμένα κριτήρια ( τροποποιημένη ταξινόμηση κατά Marsh).

- Ο φυσιολογικός βλεννογόνος - φυσιολογική αρχιτεκτονική λαχνών, κρυπτών.
- Η βλάβη τύπου I (διηθητική) κατά Marsh: αντιστοιχεί σε φυσιολογική αρχιτεκτονική του βλεννογόνου με λεμφοκυτταρική διήθηση της επιθηλιακής στιβάδας των λαχνών. Ο ουδός των φυσιολογικών τιμών των ενδοεπιθηλιακών λεμφοκυττάρων δεν έχει σαφώς καθοριστεί, ωστόσο μια υπέρβαση της τάξης των 30-40 λεμφοκυττάρων προς 100 επιφανειακά εντεροκύτταρα σημαίνει σημαντική αύξηση.
- Η βλάβη τύπου II (υπερπλαστική) κατά Marsh : υπάρχει εάν, επιπροσθέτως της λεμφοκυτταρικής διήθησης, παρατηρείται μια υπερπλασία των κρυπτών που φαίνεται από την διακλάδωση των κρυπτών, επιμήκυνση και αυξημένη μιτωτική δραστηριότητα. Ο

λόγος ύψους των λαχνών/βάθους των κρυπτών μειώνεται κάτω από την φυσιολογική τιμή του 3-5.

- Η βλάβη τύπου III (καταστρεπτική) κατά Marsh: χαρακτηρίζεται από την ατροφία των λαχνών.

Το στάδιο Marsh IIIA αντιστοιχεί σε μερική (partial) ατροφία των λαχνών, η οποία αντιστοιχεί σε μια αναλογία ύψους λαχνών/ βάθους κρυπτών μικρότερη του 1.

Το στάδιο Marsh IIIB περιγράφεται ως υπολική (subtotal) ατροφία των λαχνών όπου όμως διακριτές λάχνες ακόμη αναγνωρίζονται.

Το στάδιο Marsh IIIC χαρακτηρίζεται από πλήρη (total) ατροφία των λαχνών, χωρίς καμία ευδιάκριτη λάχνη, που μοιάζει με τον βλεννογόνο του παχέος εντέρου.

- Η βλάβη τύπου IV (υποπλαστική) κατά Marsh: περιγράφει ένα σπάνιο ιστολογικό εύρημα ενός επίπεδου ατροφικού βλεννογόνου που θεωρείται ότι σηματοδοτεί μια μη αντιστρεπτή βλάβη λόγω της χρόνιας φλεγμονής.

Η γαστροσκόπηση και η λήψη των βιοψιών πραγματοποιούνταν στο Ενδοσκοπικό της Πανεπιστημιακής Γαστρεντερολογικής Κλινικής του Π.Π.Γ.Ν.Λάρισας.

Η παθολογοανατομική ανάλυση των ληφθέντων δειγμάτων γίνονταν στο Εργαστήριο Παθολογοανατομίας του Π.Π.Γ.Ν.Λάρισας.

### 3. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Ο επιπολασμός και τα 95% Διαστήματα Αξιοπιστίας (95% CI) έχουν υπολογιστεί με τη χρήση συμβατικών συστημάτων στατιστικής ανάλυσης. Τα αποτελέσματα τα οποία αφορούν ποσοτικές μεταβλητές εκφράζονται ως μέση τιμή  $\pm$  μια σταθερά απόκλιση.

## **4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ**

### **4.1. ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΚΟΙΛΙΟΚΑΚΗΣ ΣΤΟΝ ΕΝΗΛΙΚΑ ΠΛΗΘΥΣΜΟ ΤΗΣ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**

Τα επίπεδα της ολικής IgA ανοσοσφαιρίνης όλων των ατόμων βρέθηκαν εντός των φυσιολογικών ορίων και έτσι αποκλείστηκε η ύπαρξη εκλεκτικής IgA ανεπάρκειας.

Τέσσερα από τα 2.230 δείγματα ήταν θετικά τόσο για τα αντισώματα έναντι της ιστικής τρανσγλουταμινάσης h-tTG IgA όσο και για τα αντισώματα έναντι του ενδομυίου - EmA IgA. Στα άτομα αυτά προτάθηκε βιοψία λεπτού εντέρου την οποία και απεδέχθησαν. Όλοι είχαν ιστολογικά και ενδοσκοπικά ευρήματα συμβατά με κοιλιοκάκη. Με αυτόν τον τρόπο, η συχνότητα της νόσου στον ενήλικα πληθυσμό της Θεσσαλίας υπολογίζεται σε 1 : 558 ( 0,18% ή 1,8/1.000).

### **4.2. ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ**

Στους πίνακες 13 και 14 παρουσιάζονται τα δημογραφικά στοιχεία και τα αποτελέσματα των ορολογικών ελέγχων, της HLA- τυποποίησης και της ιστοπαθολογικής εξέτασης των τεσσάρων ατόμων που βρέθηκαν θετικά για τα αντισώματα έναντι τρανσγλουταμινάσης IgA και έναντι ενδομυίου IgA. Συγχρόνως, σε αυτά τα άτομα έγινε πλήρης κλινικοεργαστηριακός έλεγχος (Πίνακες 15 και 16). Η λήψη του ιστορικού έγινε βάσει συγκεκριμένου ερωτηματολογίου που περιελάμβανε πληροφορίες για το ιστορικό σακχαρώδη διαβήτη, αναιμίας, οστεοπόρωσης, ηπατικής ή νεφρικής νόσου, θυρεοειδοπάθειας, κακοήθειας, για κάποια πιθανή προηγούμενη διάγνωση κοιλιοκάκης στον ίδιο ή σε συγγενή, για την παρουσία δυσπεψίας, δυσκοιλιότητας ή διάρχειων κοιλιακών αλγών όπως και για διάρροιες συνεχείς διάρκειας άνω των 15 ημερών και τέλος στοιχεία από το γυναικολογικό και μαιευτικό ιστορικό όπως η ηλικία εμμηναρχής και οι πιθανές αποβολές.

**Πίνακας 13.** Τα δημογραφικά στοιχεία των τεσσάρων ατόμων που βρέθηκαν θετικά για τα αντισώματα έναντι τρανσγλουταμινάσης IgA και έναντι ενδομυϊου IgA και τα αποτελέσματα των ορολογικών ελέγχων και της HLA-τυποποίησης.

Ασθενής	Φύλο	Ηλικία	Αντισώματα	Τίτλος	HLA	
			Αντι-tTG	Αντισωμάτων		
			IgA (AU/ml)	EmA IgA	DQA1*	DQB1*
1	Άρρεν	26	26,26	1: 160	0102/0501	0201/0604
2	Θήλυ	35	142,25	1: 40	0102/0501	0201/0604
3	Θήλυ	18	352,41	1: 80	0103/0501	0201/0603
4	Άρρεν	20	81,81	1: 80	0301/0303	0202/0302

**Πίνακας 14.** Τα ευρήματα της ιστοπαθολογικής εξέτασης των τεσσάρων ατόμων που υποβλήθηκαν σε βιοψία λεπτού εντέρου.

Ασθενής                      Ευρήματα ιστολογικής εξέτασης

1	Υφολική ατροφία των λαχνών, υπερπλασία των κρυπτών, αξιοσημείωτη αύξηση των ενδοεπιθηλιακών λεμφοκυττάρων όπως καταδεικνύεται και στις ανοσοχρώσεις για T – λεμφοκυτταρικούς δείκτες (CD3 θετικά). Αναγνωρίζονται λίγες καλοδιατηρημένες λάχνες (στάδιο IIIB κατά Marsh).
2	Μερική επιπέδωση των λαχνών, υπερπλασία των κρυπτών και εστιακή αύξηση των ενδοεπιθηλιακών λεμφοκυττάρων ( CD3 θετικά). Στις θέσεις που μπορεί να γίνει εκτίμηση της αρχιτεκτονικής των εντερικών λαχνών διαπιστώνεται λόγος ύψους λαχνών/ βάθους κρυπτών < 1.(στάδιο IIIA κατά Marsh).
3	Υφολική επιπέδωση των λαχνών, υπερπλασία των κρυπτών και αύξηση των ενδοεπιθηλιακών λεμφοκυττάρων (CD3 θετικά). Αναγνωρίζονται λίγες καλοδιατηρημένες λάχνες.( στάδιο IIIB κατά Marsh).

4 Εστιακή επιπέδωση λαχνών με υπερπλασία κρυπτών και αξιοσημείωτη αύξηση ενδοεπιθηλιακών λεμφοκυττάρων. Οίδημα και φλεγμονώδεις κυτταρικές διηθήσεις που περιλαμβάνουν και ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα. Αναγνωρίζονται λίγες καλοδιατηρημένες λάχνες. Τα ευρήματα δεν είναι παθογνωμονικά. Σκόπιμη θεωρείται η συνεκτίμηση με το ιστορικό και την ενδοσκοπική εικόνα για την τεκμηρίωση διάγνωσης κοιλιοκάκης.

Επαναληπτική βιοψία έναν χρόνο μετά από δίαιτα ελεύθερη γλουτένης. Φυσιολογική αρχιτεκτονική των εντερικών λαχνών και εστιακή ήπια αύξηση των ενδοεπιθηλιακών λεμφοκυττάρων. Τα ευρήματα αυτά, σε συνδυασμό με το ιστορικό του ασθενούς, είναι συμβατά με ανταπόκριση στην αγωγή.

Πίνακας 15. Ο εργαστηριακός έλεγχος των 4 κοιλιοκακικών.

Ασθενείς				
	1	2	3	4
Αιματοκρίτης (%)	41,7	37,3	36,8	38,1
Αιμοπετάλια (10 <sup>3</sup> /μl)	252	300	320	240
Λευκά αιμοσφαίρια (10 <sup>3</sup> /μl)	6.4	5.3	4.7	7.8
Σίδηρος ( μg/dl) [ φ.τ. 53-167mg/dl] <sup>a</sup>	90	78	85	88
Αλκαλική φωσφατάση (U/L) [ φ.τ. 34-304 U/L]	126	58	102	79
SGOT (U/L) [φ.τ. 10-37 U/L]	11	15	12	22
SGPT (U/L) [φ.τ. 10-37 U/L]	15	16	18	20
Αλβουμίνη (g/dl) [ φ.τ 3,5-5,0 g/dl]	4,7	4,8	4,5	4,2
Ασβέστιο ( mg/dl) [φ.τ 8,5-10,5 mg/dl]	8,8	9,2	9,5	9,4
HDL ( mg/dl) [φ.τ. >40mg/dl]	45	42	40	39
LDL ( mg/dl) [φ.τ. < 160 mg/dl]	115	103	104	107

<sup>a</sup> φ.τ : φυσιολογικές τιμές.

Πίνακας 16. Τα κλινικά χαρακτηριστικά των 4 κοιλιοκακικών.

ασθενής	BMI (%)	Συμπτώματα	Δυσσπορρό- φηση	Παθολογικά ευρήματα κλινικής εξέτασης
1	22	( - )	Όχι	( - )
2	20	( - )	Όχι	( - )
3	19	Δυσκοιλιότητα, μετεωρισμός	Όχι	Ωχρότητα
4	22	Μετεωρισμός, βορβορυγμοί.	Όχι	Ωχρότητα Διάχυτη ευαισθησία κατά την ψηλάφηση της κοιλιάς

Ο ασθενής 1 ήταν άνδρας 26 ετών. Ο έλεγχος για την παρουσία αντισωμάτων τόσο των IgA αντι- tTG όσο και των IgA EmA ήταν θετικός. Του προτάθηκε η διενέργεια βιοψίας εντέρου την οποία και αποδέχθηκε. Η ενδοσκοπική εικόνα περιελάμβανε ωχρότητα του βλεννογόνου και μείωση των δωδεκαδακτυλικών πτυχών. Η βιοψία έδειξε την παρουσία βλαβών συμβατών με κοιλιοκάκη ( στάδιο IIIB κατά Marsh). Η HLA γονιδιακή τυποποίηση, έδειξε την παρουσία των χαρακτηριστικών αλληλίων για την κοιλιοκάκη. Από το ιστορικό, την κλινική εξέταση και τον εργαστηριακό έλεγχο δεν προέκυψε κάποιο παθολογικό εύρημα. Ο ασθενής έλαβε τη διάγνωση της σιωπηλής/ υποκλινικής κοιλιοκάκης. Του συνεστήθη δίαιτα ελεύθερη γλουτένης, την οποία όμως δεν φάνηκε πρόθυμος να ακολουθήσει και αρνήθηκε τον επανέλεγχο.

Η ασθενής 2 ήταν μια γυναίκα 35 ετών. Όταν ο έλεγχος για τα αντισώματα IgA αντι- tTG και IgA EmA αποδείχθηκε θετικός, της προτάθηκε βιοψία εντέρου. Η ενδοσκοπική εικόνα μείωσης των δωδεκαδακτυλικών πτυχών καθώς και η ιστολογική εικόνα ήταν διαγνωστικά για κοιλιοκάκη. Η HLA - γονιδιακή τυποποίηση αποκάλυψε ότι αυτή ήταν θετική και για τα δύο HLA αλληλία που σχετίζονται με τη νόσο ( Πίνακας 13). Το ιστορικό της ήταν ελεύθερο τόσο για



συμπτώματα από το πεπτικό, όσο και για σχετιζόμενες με την κοιλιοκάκη καταστάσεις. Ο εργαστηριακός έλεγχος και η κλινική εικόνα ήταν χωρίς παθολογικά ευρήματα. Διαγνώστηκε, επίσης ως πάσχουσα από την σιωπηλή/υποκλινική κοιλιοκάκη και της συνεστήθη δίαιτα ελεύθερη γλουτένης. Θα επανέλθει για έλεγχο σε έναν χρόνο.

Η ασθενής 3 ήταν μια γυναίκα 18 ετών. Ο ορολογικός έλεγχος (IgA αντι- tTG και IgA EmA) ήταν θετικός. Προχώρησε σε βιοψία εντέρου, η ενδοσκοπική και ιστολογική εικόνα (στάδιο IIIB κατά Marsh) ήταν διαγνωστικές για κοιλιοκάκη. Της έγινε και HLA γονιδιακή τυποποίηση. Ήταν θετική και για τα δύο HLA αλληλία που σχετίζονται με τη νόσο (Πίνακας 13). Ανέφερε δυσκοιλιότητα και μετεωρισμό διάρκειας περίπου δυο μηνών. Στον εργαστηριακό έλεγχο, διαπιστώθηκε μόνο ήπια αναιμία, με φυσιολογικές όμως τιμές σιδήρου, και στην κλινική εξέταση ωχρότητα δέρματος και βλεννογόνων. Τέθηκε η διάγνωση της ολιγοσυμπτωματικής κοιλιοκάκης και δόθηκαν οδηγίες για δίαιτα ελεύθερη γλουτένης. Στον επανέλεγχό ένα χρόνο μετά, ήταν ελεύθερη συμπτωμάτων. Ο αιματολογικός έλεγχος ήταν φυσιολογικός, όπως επίσης και οι τίτλοι των αντισωμάτων IgA αντι-tTG και EmA.

Ο ασθενής 4 ήταν άνδρας 20 ετών. Ο έλεγχος για τα αντισώματα IgA αντι- tTG και IgA EmA ήταν θετικός. Του προτάθηκε βιοψία εντέρου και HLA τυποποίηση. Παρά το γεγονός ότι τα ιστολογικά ευρήματα δεν ήταν παθογνωμονικά για τη νόσο, ο συνδυασμός με την ενδοσκοπική εικόνα που ήταν χαρακτηριστική (ωχρότητα του βλεννογόνου, εικόνα δίκην πλακοστρώτου και μείωση των δωδεκαδακτυλικών πτυχών), με τα ευρήματα της HLA τυποποίησης (παρουσία και των δύο HLA αλληλίων που σχετίζονται με τη νόσο), όπως επίσης και με την κλινική εικόνα τεκμηρίωσαν την διάγνωση της κοιλιοκάκης (ολιγοσυμπτωματική μορφή). Είχε ιστορικό συμπτωμάτων όπως ο μετεωρισμός και οι βορβορυγμοί από έτους, μια ήπια αναιμία και μια διάχυτη ευαισθησία κατά την ψηλάφηση της κοιλιάς. Είχε επανειλημμένως επισκεφθεί γιατρούς για αυτό το πρόβλημα υγείας, στο παρελθόν. Δεν είχε λάβει κάποια οριστική διάγνωση, τα συμπτώματά του συνήθως αποδίδονταν στο σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου. Τέθηκε σε δίαιτα ελεύθερη γλουτένης, η συμπτωματολογία του υφέθηκε και ένα χρόνο μετά η επαναληπτική βιοψία έδειξε ανταπόκριση στην αγωγή.

#### **4.3. ΠΑΡΟΥΣΙΑ IGA ΚΑΙ IGG ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΕΝΑΝΤΙ ΙΣΤΙΚΗΣ ΤΡΑΝΣΓΛΟΥΤΑΜΙΝΑΣΗΣ ΣΕ ΜΗ ΑΣΘΕΝΕΙΣ**

Πέραν των ανωτέρω τεσσάρων ασθενών, 16 από τα 2.230 άτομα του πληθυσμού που ελέγχθηκε, ήταν θετικά για τα αντισώματα αντι- tTG είτε IgA είτε IgG. Συγκεκριμένα, 8 άτομα ήταν θετικά για τα αντισώματα IgA αντι- tTG, 8 άτομα ήταν θετικά για τα αντισώματα IgG αντι- tTG και κανένα άτομο δεν βρέθηκε θετικό και για τα δύο αντισώματα. Οι τιμές των IgA αντι- tTG αντισωμάτων των 8 θετικών ατόμων κυμαίνονταν από 28,07 AU/ml έως 72,67 AU/ml ( μέση τιμή  $47,13 \pm 17,94$  ) και των IgG αντι- tTG αντισωμάτων των 8 θετικών ατόμων κυμαίνονταν από 20,82 AU/ml έως 26,38 AU/ml ( μέση τιμή  $24,2 \pm 1,99$  ). Στους πίνακες 17, 18 παρουσιάζονται τα δημογραφικά στοιχεία και τα αποτελέσματα του ορολογικού ελέγχου των 8 IgA αντι- tTG θετικών και των 8 IgG αντι- tTG θετικών ατόμων, αντίστοιχα.

Πίνακας 17. Τα δημογραφικά στοιχεία και τα αποτελέσματα του προσδιορισμού των IgA αντι- tTG αντισωμάτων των 8 οροθετικών μη-κοιλιοκακικών.

A/α	Φύλο	Ηλικία (έτη)	IgA αντι- tTG (AU/ml)
1	Θήλυ	27	45,8
2	Άρρεν	67	71,2
3	Άρρεν	75	32,4
4	Άρρεν	72	30,4
5	Θήλυ	55	72,6
6	Θήλυ	32	49,4
7	Άρρεν	75	28,0
8	Θήλυ	74	57,2

Πίνακας 18. Τα δημογραφικά στοιχεία και τα αποτελέσματα του προσδιορισμού των IgG αντι- tTG αντισωμάτων των 8 οροθετικών μη-κοιλιοκακικών.

A/α	Φύλο	Ηλικία (έτη)	IgG αντι- tTG (AU/ml)
1	Θήλυ	55	20,8
2	Άρρεν	51	25,9
3	Άρρεν	51	25,9
4	Άρρεν	68	25,1
5	Θήλυ	52	26,3
6	Θήλυ	48	22,4
7	Θήλυ	55	24,2
8	Θήλυ	38	22,8

Και τα 16 αυτά δείγματα ελέγχθηκαν για την παρουσία αντισωμάτων IgA EmA, με την μέθοδο του έμμεσου ανοσοφθορισμού. Όλα ήταν αρνητικά. Αξίζει να σημειωθεί ότι, παρά το αρνητικό εύρημα, το πρότυπο ανοσοφθορισμού σε 2 από τους ορούς που ελέγχθηκαν χαρακτηριζόταν από την απουσία της τυπικής εικόνας φθορισμού των EmA ( λεπτό δίκτυο γύρω από τις λείες μυϊκές ίνες), Αντί αυτού, παρατηρούταν ομοιογενής φθορισμός ολοκλήρων των ινών. Στα άτομα αυτά προτάθηκε έλεγχος ηπατικής λειτουργίας. Όλα τα άτομα βρίσκονται υπό παρακολούθηση.

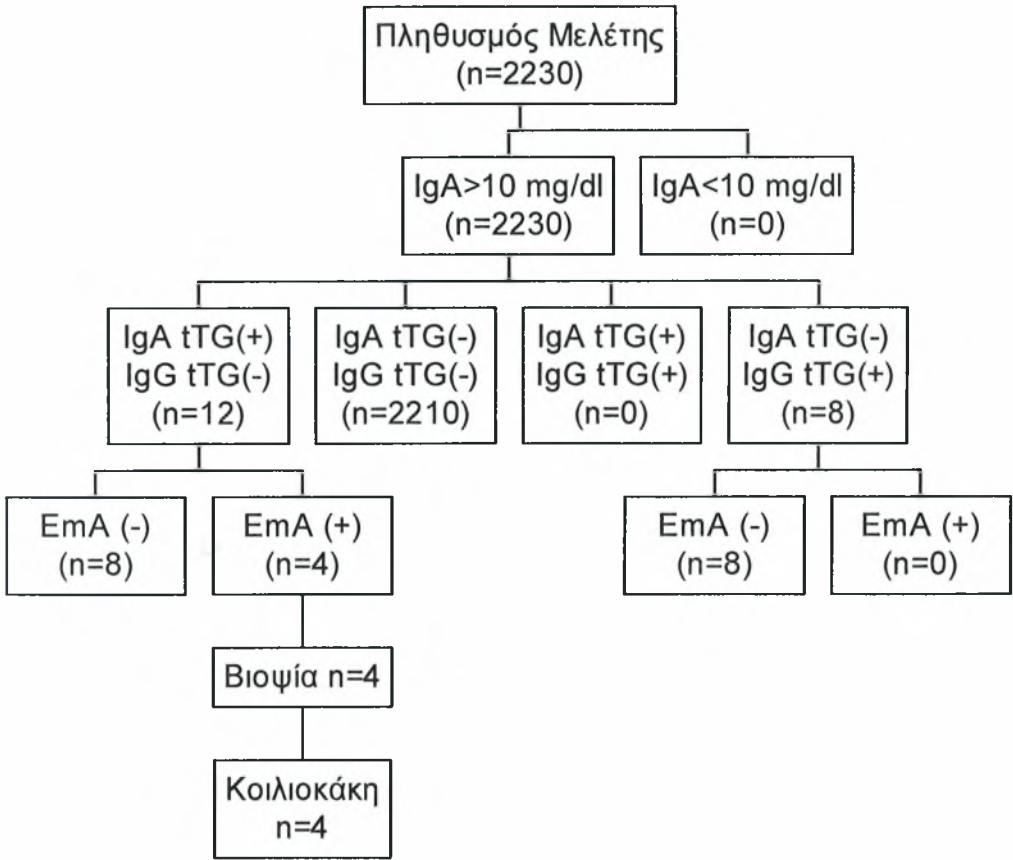
#### **4.4. ΤΑ ΣΥΝΟΛΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ**

Συνολικά, λοιπόν ελέγχθηκαν 2.230 οροί για την παρουσία αντισωμάτων IgA και IgG αντι- tTG. Από αυτούς 12 ήταν θετικοί για την παρουσία αντισωμάτων IgA αντι- tTG ( ποσοστό 0,5% ) και από αυτούς τους 12 μόνο οι 4 ήταν θετικοί για την παρουσία αντισωμάτων IgA EmA, ενώ οι υπόλοιποι 8 ήταν αρνητικοί. Τα τέσσερα θετικά άτομα

τόσο για τα αντισώματα IgA αντι- tTG , όσο και για τα IgA EmA, είχαν και βιοψία συμβατή με κοιλιοκάκη. Επιπλέον 8 οροί ήταν IgG αντι- tTG θετικοί. Σε αυτούς έγινε επίσης προσδιορισμός των IgA EmA ο οποίος ήταν αρνητικός. Άρα και τα 8 IgG αντι- tTG θετικά δείγματα ανήκαν σε μη ασθενείς. Είχε προηγηθεί ανοσονεφελομετρικός προσδιορισμός της ολικής IgA ανοσοσφαιρίνης σε όλα τα δείγματα, με τον οποίο είχε αποκλειστεί η εκλεκτική IgA ανεπάρκεια.

Στην εικόνα 12 φαίνονται τα συνολικά αποτελέσματα της μελέτης.

Εικόνα 12. Τα συνολικά αποτελέσματα της μελέτης.



## 5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η γενική αρχή στην οποία βασίζεται ο ομαδικός έλεγχος (screening) είναι ότι η προσυμπτωματική διάγνωση οδηγεί σε ευνοϊκότερη κλινική εξέλιξη και καλύτερη τελική έκβαση, συγκριτικά με τη διάγνωση που γίνεται μετά την εμφάνιση των συμπτωμάτων. Ο προσυμπτωματικός έλεγχος αποτελεί τη βάση της δευτερογενούς πρόληψης και κατέχει μια ιδιότυπη θέση ανάμεσα στην επιδημιολογία, την προληπτική ιατρική και τη θεραπευτική ιατρική. Η φιλοσοφία του ανήκει στην προληπτική ιατρική, η μεθοδολογία του έχει επιδημιολογικές ρίζες, και η αξιοποίησή του προϋποθέτει κάποιο είδος θεραπευτικής παρέμβασης στους ασθενείς που ανακαλύπτονται κατά τον έλεγχο.

Σύμφωνα με τον ορισμό της Επιτροπής Υπουργών της Ευρώπης (Committee of Ministers to Member States on Screening as a tool of Preventive medicine, 1994), ομαδικός έλεγχος (screening) είναι «η εφαρμογή μιας δοκιμασίας σε μια καθορισμένη ομάδα ατόμων με σκοπό την αναγνώριση ενός πρώιμου σταδίου, ενός προκαταρκτικού σταδίου, ενός παράγοντα κινδύνου ή ενός συνδυασμού παραγόντων κινδύνου ενός νοσήματος. Σε κάθε περίπτωση αντικείμενο του ελέγχου είναι η ανίχνευση φαινομένων, τα οποία μπορούν να αναγνωριστούν πριν από την έναρξη του νοσήματος».

Στις ανεπτυγμένες χώρες τα τελευταία χρόνια το ενδιαφέρον έχει μετατοπιστεί από τη διάγνωση και θεραπεία των χρόνιων νοσημάτων, τα οποία αποτελούν τις κύριες αιτίες θανάτου του πληθυσμού αυτών, στον ομαδικό προληπτικό έλεγχο. Για να χαρακτηριστεί ως επιτυχής ένας ομαδικός έλεγχος απαιτείται αυξημένη ανίχνευση της νόσου, βελτίωση της υγείας αυτού του πληθυσμού όπως και πρόληψη γνωστών επιπλοκών.

Τα κριτήρια και οι προϋποθέσεις για την εφαρμογή προγραμμάτων ομαδικού ελέγχου διακρίνονται σε εκείνα που αφορούν το αναζητούμενο νόσημα, σε εκείνα που αφορούν τη δοκιμασία διαλογής και, τέλος, σε εκείνα που αφορούν τις συνθήκες εφαρμογής του προγράμματος.

Πιο συγκεκριμένα, σύμφωνα με τον ΠΟΥ τα κριτήρια για την εφαρμογή προγραμμάτων ομαδικού ελέγχου είναι τα ακόλουθα: (α) η πρώιμη ανίχνευση της νόσου πρέπει να είναι δύσκολη σε κλινική βάση, (β) η νόσος πρέπει να είναι συχνή και να προκαλεί σημαντική

νοσηρότητα στον γενικό πληθυσμό, (γ) πρέπει να υπάρχει διαγνωστική δοκιμασία απλή, φθηνή, υψηλής ευαισθησίας και ειδικότητας, που να μπορεί να εφαρμοστεί σε μεγάλους πληθυσμούς, (δ) πρέπει να υπάρχει θεραπεία, και (ε) εάν η νόσος δεν αναγνωριστεί θα πρέπει να οδηγεί σε σοβαρές επιπλοκές. Η κοιλιοκάκη φαίνεται να πληροί αυτά τα κριτήρια καθώς, (α) η κλινική της εκδήλωση είναι πολύ πολύπλοκη και περιλαμβάνει εκτός από το τυπικό σύνδρομο δυσαπορρόφησης και ένα ευρύ φάσμα συμπτωμάτων που δυνητικά μπορεί να αφορά οποιοδήποτε όργανο ή σύστημα, (β) είναι μια συχνή κατάσταση σε Ευρώπη και Β. Αμερική με έναν επιπολασμό που προσεγγίζει το 1% του γενικού πληθυσμού, και εάν καθυστερήσει η διάγνωση της, επιπλοκές όπως οστεοπόρωση, αυτοάνοσα νοσήματα, διαταραχές της ανάπτυξης μπορεί να εμφανιστούν, (γ) ειδικές και ευαίσθητες ορολογικές δοκιμασίες είναι διαθέσιμες, με κυριότερη την δοκιμασία ανίχνευσης των αντισωμάτων έναντι της ιστικής τρανσγλουταμινάσης, (δ) υπάρχει θεραπεία, η δίαιτα ελεύθερη γλουτένης, και (ε) οι ασθενείς που παραμένουν αδιάγνωστοι και χωρίς θεραπεία κινδυνεύουν από σοβαρές επιπλοκές όπως κακοήθειες. Υπάρχει ωστόσο και η αντίθετη άποψη που υποστηρίζει ότι δεν δικαιολογείται ομαδικός έλεγχος για την κοιλιοκάκη, καθώς (α) δεν υπάρχουν επαρκείς αποδείξεις ότι ο ομαδικός έλεγχος του γενικού πληθυσμού θα οδηγήσει σε μείωση της νοσηρότητας, (β) δεν υπάρχουν αποδείξεις ότι η υιοθέτηση της δίαιτας ελεύθερης γλουτένης από τα ασυμπτωματικά άτομα θα οδηγήσει σε μείωση της θνητότητας, (γ) οι ασυμπτωματικοί ασθενείς που έχουν ανιχνευθεί μετά από ομαδικό έλεγχο συνήθως δείχνουν χαμηλή συμμόρφωση στη δίαιτα ελεύθερη γλουτένης, (δ) δεν υπάρχουν αποδείξεις ότι ο ομαδικός έλεγχος για την κοιλιοκάκη θα έχει καλή σχέση κόστους-οφέλους, και (ε) ο ομαδικός έλεγχος θα επιδείξει μόνο φαινόμενα πρόσθετου χρόνου.

Πρέπει να ληφθεί υπόψη ότι, επί του παρόντος, ελάχιστα νοσήματα θεωρούνται ότι πληρούν όλα τα κριτήρια για ομαδικό έλεγχο ενώ σπάνια οι προτεινόμενες διαδικασίες αξιολόγησης αποτελεσματικότητας γίνονται ολοκληρωμένα. Εξάλλου η εφαρμογή ευρέων προγραμμάτων ομαδικού ελέγχου εγείρει σημαντικά ηθικά, νομικά, κοινωνικά, ιατρικά, οργανωτικά και οικονομικά προβλήματα που απαιτούν αρχική αλλά και συνεχή αξιολόγηση.

Η παρούσα μελέτη ομαδικού ελέγχου για την κοιλιοκάκη στον ενήλικα πληθυσμό της Θεσσαλίας πραγματεύεται θέματα όπως είναι η



συχνότητα του νοσήματος στον γενικό πληθυσμό, η κλινική πολυπλοκότητα της νόσου, η αξιοπιστία του χρησιμοποιούμενου αλγορίθμου και η ισχύς της χρησιμοποιούμενης δοκιμασίας ανίχνευσης των αντισωμάτων έναντι της ιστικής τρανσγλουταμινάσης, ο ρόλος της γονιδιακής τυποποίησης των HLA-DQ σε έναν αλγόριθμο ομαδικού ελέγχου και η καλύτερη επιδημιολογική προσέγγιση για την έγκαιρη ανίχνευση της κοιλιοκάκης.

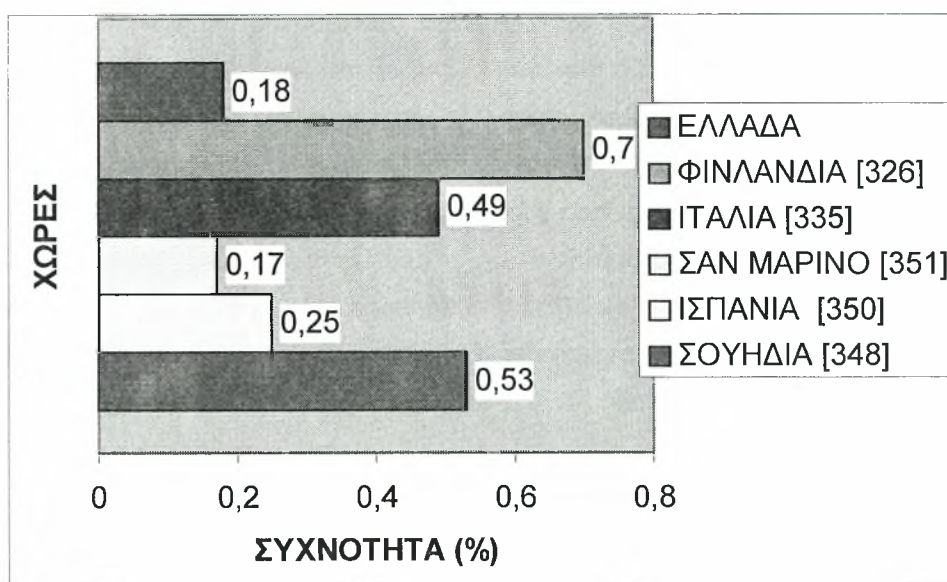
Πρόσφατες επιδημιολογικές μελέτες της κοιλιοκάκης, βασισμένες σε ορολογικό ομαδικό έλεγχο, (screening), του γενικού πληθυσμού πολλών χωρών, έχουν ρίξει φως στον επιπολασμό της εντεροπάθειας εκ γλουτένης στο γενικό πληθυσμό, αποτελώντας μια ισχυρή ένδειξη αφενός ότι η κοιλιοκάκη είναι πολύ συχνότερη από όσο πιστεύαμε παλιότερα και αφετέρου ότι οι άτυπες, ήπια συμπτωματικές και σιωπηλές μορφές της νόσου είναι επίσης περισσότερο συχνές [329,348,351,359].

Τα επιδημιολογικά χαρακτηριστικά της κοιλιοκάκης στην Ελλάδα είναι σε μεγάλο βαθμό άγνωστα μέχρι σήμερα. Η παρούσα μελέτη είναι η πρώτη βασισμένη στον γενικό πληθυσμό μελέτη ομαδικού ελέγχου για την κοιλιοκάκη στον ελληνικό χώρο. Μέχρι σήμερα, αναφορικά με τη συχνότητα της κοιλιοκάκης στην Ελλάδα υπάρχει μόνο μια εργασία (letter to the editor) που στηρίζεται σε αναδρομικό έλεγχο ενδοσκοπικού υλικού και την ανεβάζει σε ποσοστό 1:520 [13].

Η συχνότητα της κοιλιοκάκης στον ενήλικα γενικό πληθυσμό της Θεσσαλίας, όπως προκύπτει από την παρούσα μελέτη ομαδικού ελέγχου, είναι 1,8 ανά 1.000 άτομα ( 0,18% ή 1 : 558). Ο επιπολασμός της κοιλιοκάκης σε γενικούς μη επιλεγμένους πληθυσμούς της Βόρειας Αμερικής και της Δυτικής Ευρώπης, όπως έχει εκτιμηθεί κυμαίνεται ευρέως από 1,52 ανά 1.000 άτομα (0,152% ή 1:658) έως 26,7 ανά 1.000 (2,67% ή 1:37) [327]. Οι παρατηρούμενες διαφορές μεταξύ των μελετών οφείλονται αφενός στον διαφορετικό σχεδιασμό, στις χρησιμοποιούμενες δοκιμασίες, στον πληθυσμό, αν αποτελείται δηλαδή μόνο από ενήλικες ή μόνο από παιδιά ή από συνδυασμό αυτών, από το μέγεθος του πληθυσμού και επίσης εάν η διάγνωση έχει επιβεβαιωθεί ή όχι από βιοψία λεπτού εντέρου, που είναι και το gold standard για τη διάγνωση της κοιλιοκάκης. Μελέτες συγκρίσιμες με τη δική μας, τόσο ως προς το σχεδιασμό, τις χρησιμοποιούμενες δοκιμασίες, τη σύνθεση του πληθυσμού όσο και την επιβεβαίωση με βιοψία είναι οι ακόλουθες: από τη Σουηδία οι μελέτες των Grodzinsky[324],

Ivarsson[348], και Sjoberg[342,349] που έχουν εκτιμήσει τον επιπολασμό της κοιλιοκάκης από 1,52 ανά 1.000 άτομα ( 0,152% ή 1:658 ) έως 5,3 ανά 1.000 άτομα ( 0,53% ή 1:188 ), από την Φινλανδία η μελέτη του Kolho[326] που έχει υπολογίσει τη συχνότητα της κοιλιοκάκης στους ενήλικες 7,4 ανά 1.000 άτομα ( 0,74% ή 1:135 ) από την Ισπανία η μελέτη του Riestra[350] που έχει επιδείξει επιπολασμό 2,5 ανά 1.000 άτομα ( 0,25% ή 1:400 ), από το Σαν Μαρίνο η μελέτη του Corazza[351] με υπολογιζόμενο επιπολασμό 1,7 ανά 1.000 άτομα ( 0,17% ή 1:559 ). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι ιταλικές μελέτες, τόσο γιατί η Ιταλία γειτονεύει με την Ελλάδα όσο και γιατί πολλές από αυτές έχουν επιδείξει σημαντικά υψηλό επιπολασμό της νόσου. Εκείνες ωστόσο που έχουν γίνει σε ενήλικα πληθυσμό και που έχουν παρεμφερή σχεδιασμό με τη δική μας μελέτη είναι των Pitttschieler[354], Trevisiol[334] και Volta[335] οι οποίες έχουν εκτιμήσει την συχνότητα της κοιλιοκάκης σε 1,95 ανά 1.000 άτομα ( 0,19% ή 1:512 ), 2,5 ανά 1.000 άτομα ( 0,25% ή 1:400 ) και 4,9 ανά 1.000 άτομα ( 0,49 ή 1:204 ) αντίστοιχα. Αξίζει, ωστόσο να σημειωθεί ότι οι ιταλικές μελέτες αφορούν όλες πληθυσμούς της Βόρειας Ιταλίας ενώ δεν υπάρχουν αντίστοιχες μελέτες από τη Νότια Ιταλία. Η παρατήρηση αυτή γίνεται διότι υπάρχουν ενδείξεις ότι η συχνότητα της νόσου είναι υψηλότερη στις χώρες της Βόρειας Ευρώπης σε σύγκριση με την Νότια Ευρώπη και ότι το γεωγραφικό πλάτος παίζει καθοριστικό ρόλο έτσι ώστε οι χώρες που βρίσκονται εγγύτερα προς τον Ισημερινό να παρουσιάζουν χαμηλότερη συχνότητα της νόσου, όπως έχουν δείξει και μελέτες από τη Βόρεια Αφρική και την Ασία[12]. Στην παρούσα μελέτη η συχνότητα που καταδείχθηκε είναι μεταξύ των χαμηλότερων της Ευρώπης, αν και υψηλότερη από τις συχνότητες που είχαν καταγραφεί στο παρελθόν. Το αποτέλεσμα αυτό δικαιολογείται από την γεωγραφική θέση της χώρας μας στο νοτιότερο άκρο της Ευρώπης [Εικόνα 13].

Εικόνα 13. Η συχνότητα της κοιλιόκακκης στο γενικό πληθυσμό όπως έχει υπολογιστεί σε μελέτες ομαδικού ελέγχου.



Η διάγνωση της κοιλιόκακκης βασίζεται στη εκτίμηση της μορφολογίας του βλεννογόνου του λεπτού εντέρου. Στις περισσότερες μελέτες ομαδικού ελέγχου δεν έχει γίνει επιβεβαίωση της διάγνωσης με βιοψία λεπτού εντέρου, η παρούσα μελέτη πλεονεκτεί έναντι αυτών των μελετών γιατί έχει περιληφθεί ιστολογική τεκμηρίωση της διάγνωσης, άρα και το αποτέλεσμα είναι περισσότερο πιθανό να αντανακλά τον πραγματικό επιπολασμό της νόσου στον γενικό πληθυσμό. Ωστόσο, πιστεύουμε ότι ο αριθμός των περιστατικών κοιλιόκακκης που ανιχνεύθηκαν, ίσως υπο-εκτιμά τον αληθινό επιπολασμό της νόσου, για δύο λόγους: α) Μπορεί να υπάρχουν και ασθενείς μεταξύ των h-tTG θετικών και EmA αρνητικών ατόμων στους οποίους δεν έγινε βιοψία, όπως και μεταξύ αυτών με αρνητικά αντισώματα. Αν και στις πληθυσμιακές μελέτες δεν είναι αποδεκτό να γίνεται βιοψία εντέρου χωρίς μια πολύ ειδική επιβεβαιωτική ορολογική δοκιμασία σε ασυμπτωματικά άτομα, πρέπει πάντοτε να έχουμε υπόψη μας ότι η

κοιλιοκάκη μπορεί να ανευρεθεί και μεταξύ των ατόμων με αρνητικό ορολογικό έλεγχο. β) Όταν προσκαλούνται άτομα να υποβληθούν σε εξετάσεις, υπάρχει πιθανόν ένα σφάλμα επιλογής προς το υγιέστερο τμήμα του πληθυσμού [360].

Ανευρέθηκαν 4 άτομα με ιστολογικά χαρακτηριστικά τυπικά της κοιλιοκάκης. Δύο άνδρες και δύο γυναίκες, αν και περιγράφεται ότι συνήθως η αναλογία ανδρών : γυναικών που πάσχουν από τη νόσο είναι 1 : 2. Επιπλέον η κοιλιοκάκη ήταν περισσότερο συχνή μεταξύ των ατόμων της νεώτερης ηλικιακής ομάδας (18 – 35 έτη), καθώς και τα 4 περιστατικά ανευρέθηκαν να ανήκουν σε αυτή την ομάδα. Η υψηλότερη συχνότητα της κοιλιοκάκης στις νεώτερες ηλικίες νωρίτερα έχει περιγραφεί και από άλλους συγγραφείς [361]. Κανένας από τους τέσσερις ασθενείς που ανιχνεύθηκαν μεταξύ των 2.230 ατόμων που συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη, δεν είχε διαγνωστεί προ του ελέγχου των αντισωμάτων. Οι δύο μάλιστα ήταν τελείως ασυμπτωματικοί και οι άλλοι δύο επίσης δεν είχαν τυπικά συμπτώματα από το γαστρεντερικό όπως η διάρροια και το κοιλιακό άλγος, είχαν όμως μια ήπια αναιμία, και άτυπα συμπτώματα όπως ο μετεωρισμός. Οι μισοί δηλαδή ήταν ασυμπτωματικοί. Από μελέτες είναι γνωστό ότι η συχνότητα των ασυμπτωματικών ασθενών με σοβαρή ατροφία των λαχνών είναι 5 έως 7 φορές μεγαλύτερη από αυτή των ασθενών με κλασσική κοιλιοκάκη [323]. Οι άλλοι μισοί είχαν άτυπα συμπτώματα. Μελέτες επίσης έχουν δείξει ότι μερικοί από τους ασθενείς με κοιλιοκάκη μπορεί να έχουν άτυπα συμπτώματα και παραμένουν αδιάγνωστοι ή αντιμετωπίζονται ως πάσχοντες από άλλα νοσήματα όπως είναι το σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου [155]. Πράγματι ο ένας από τους ασθενείς που εντοπίσαμε αντιμετωπίζονταν ως πάσχων από σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου.

Ποικίλες μέθοδοι ορολογικού ομαδικού ελέγχου έχουν χρησιμοποιηθεί για την διερεύνηση της κοιλιοκάκης στις διάφορες μελέτες. Στην περίπτωση του ομαδικού ελέγχου, απαιτούνται ορολογικοί δείκτες με υψηλές τόσο την ευαισθησία και την ειδικότητά τους, όσο και τη διαγνωστική αξία. Η διαγνωστική αξία μιας δοκιμασίας εξαρτάται όχι μόνο από την ευαισθησία και την ειδικότητα αλλά και από τον επιπολασμό της νόσου στον πληθυσμό μελέτης. Όταν περνάμε από μια κλινική βάση, με ανθρώπους που αναζητούν ιατρική βοήθεια για συμπτώματα ενδεικτικά της κοιλιοκάκης, στον ομαδικό έλεγχο του γενικού πληθυσμού αυτό γίνεται φανερό. Επιπλέον, η διαγνωστική αξία των ορολογικών δεικτών για την κοιλιοκάκη φαίνεται

να αυξάνεται αν μια σειριακή προσέγγιση χρησιμοποιηθεί αλλά και ο αριθμός των μη απαραίτητων βιοψιών του λεπτού εντέρου, ως εκ τούτου, μειώνεται. Μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί στο παρελθόν έχουν προτείνει [348,365] σειριακό έλεγχο που αρχίζει με μια δοκιμασία AGA και, εάν είναι θετική ακολουθείται από μια δοκιμασία EmA, που αν είναι και αυτή θετική καταλήγει στην επιβεβαίωση της διάγνωσης με την βιοψία του λεπτού εντέρου. Συγκεκριμένα στον συνήθη κλασσικό αλγόριθμο [366], αρχικά γίνεται προσδιορισμός των IgA και IgG AGA αντισωμάτων σε όλα τα δείγματα, ακολουθεί ανίχνευση των IgA EmA στα IgA AGA θετικά δείγματα και νεφελομετρικός προσδιορισμός της ολικής IgA ανοσοσφαιρίνης στα δείγματα τα μόνο IgG AGA θετικά. Στους ορούς με εκλεκτική IgA ανεπάρκεια προσδιορίζονται τα IgG EmA αντισώματα. Στα άτομα, τελικά με θετικά δείγματα ορού για τα αντισώματα EmA (IgA ή IgG) προτείνεται βιοψία. Στην περίπτωση του ομαδικού ελέγχου, αυτή η προσέγγιση εξακολουθεί να είναι χρήσιμη, αν και το μειονέκτημα της χρησιμοποίησης των αντισωμάτων AGA είναι το υψηλό ποσοστό των AGA – θετικών ατόμων στο γενικό πληθυσμό, όπως έχουν δείξει και οι μελέτες των Ivarsson και συν.[348] και Riestra και συν.[350], γεγονός που επιβάλλει τη διενέργεια πολλών επιβεβαιωτικών δοκιμασιών (EmA) και ως εκ τούτου μεγάλη αύξηση του συνολικού κόστους της διαγνωστικής προσέγγισης. Επομένως, καθώς η ευαισθησία, η ειδικότητα και η θετική διαγνωστική αξία των αντισωμάτων AGA είναι χαμηλές [266,267,268], και ο αληθινός επιπολασμός της κοιλιοκάκης υποεκτιμάται αλλά και το κόστος αυξάνεται [366]. Θα μπορούσε να είναι ακόμη περισσότερο αποτελεσματικό να αντικατασταθούν οι δοκιμασίες AGA με την υψηλότερης ευαισθησίας και ειδικότητας δοκιμασία ανίχνευσης των αντισωμάτων έναντι h-tTG [294,296,297,298], υπό την προϋπόθεση ότι έχει αποκλειστεί η εκλεκτική IgA ανεπάρκεια με τον ταυτόχρονο προσδιορισμό της συνολικής IgA ανοσοσφαιρίνης, που είναι και ο αλγόριθμος που υιοθετήσαμε. Στον αλγόριθμο που εφαρμόσαμε λοιπόν, ο οποίος αποτελεί και τη στρατηγική που προτείνεται από τους Gomez και συν. [366], πρώτα χρησιμοποιήσαμε μια υψηλής ευαισθησίας δοκιμασία, δηλαδή τον προσδιορισμό με ELISA των IgA-tTG και επί των θετικών δειγμάτων ακολουθούσε επιβεβαίωση με τον προσδιορισμό των υψηλής ειδικότητας αντισωμάτων EmA. Μελέτες που έχουν προηγηθεί [366,367] έχουν δείξει ότι μια τέτοια μεθοδολογία ομαδικού ελέγχου είναι ο πιο κατάλληλος αλγόριθμος για τον γενικό ενήλικα πληθυσμό.



Αξίζει να σημειωθεί ότι η δοκιμασία ανίχνευσης των EmA, ως πολύ ευαίσθητος και 100% ειδικός δείκτης της κοιλιοκάκης [363] έχει προταθεί να αποτελέσει τη μοναδική ορολογική δοκιμασία, για τον ομαδικό έλεγχο για την κοιλιοκάκη στον γενικό πληθυσμό [350]. Πράγματι, έχει αναγνωριστεί ότι είναι πιο σωστό να θεωρηθούν οι σπάνιες περιπτώσεις των EmA θετικών περιπτώσεων χωρίς ατροφία των λαχνών ως δυνητικοί (λανθάνοντες) κοιλιοκακικοί παρά ως "ψευδώς θετικοί" [364]. Ωστόσο, η αξία της δοκιμασίας EmA, σε ενός βήματος ομαδικούς ελέγχους δεν έχει ακόμη τεκμηριωθεί με επιδημιολογικές μελέτες και μελέτες κόστους, ανάμεσα δε στα μειονεκτήματα αναφέρονται: το γεγονός ότι χρησιμοποιεί ως υπόστρωμα οισοφάγο πιθήκου και άρα τα αποτελέσματα είναι περιορισμένα, ότι η ευαισθησία της εξαρτάται από τον βαθμό της ατροφίας των λαχνών [369] και ότι είναι μια επίπονη, χρονοβόρα και υποκειμενική μέθοδος. Η πρόσφατη χρησιμοποίηση υποστρώματος από ανθρώπινο ομφάλιο λώρο, που είναι σαφώς πιο διαθέσιμος από τον οισοφάγο πιθήκου έχει δώσει εξίσου αξιόπιστα αποτελέσματα.

Πρόσφατα, η αναγνώριση της ιστικής τρανσγλουταμινάσης ως το αυτοαντιγόνο, αν και ίσως όχι το μόνο, που αναγνωρίζεται από τα αντισώματα έναντι του ενδομυίου και η χρησιμοποίηση μιας νέας ELISA για τα αντισώματα έναντι της ανθρώπινης tTG που έχει αποδειχθεί ότι είναι υψηλής ευαισθησίας και ειδικότητας [257] επέτρεψε την χρησιμοποίηση αυτής της δοκιμασίας στην παρούσα μελέτη, για τον έλεγχο του συνόλου των δειγμάτων αποτελώντας έτσι το πρώτο επίπεδο ελέγχου. Λαμβάνοντας μάλιστα υπόψη, ότι η δοκιμασία h-tTG έχει χρησιμοποιήσει ένα cutoff που στοχεύει στο να δώσει προτεραιότητα στην ευαισθησία σε σχέση με την ειδικότητα ( 25 AU/ml ) τα περισσότερα περιστατικά κοιλιοκάκης ήταν πιθανό να διαγνωστούν. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα μελετών [257,258,261] που αναφέρουν ευαισθησίες που κυμαίνονται μεταξύ του 85 και του 98% και ειδικότητες που κυμαίνονται μεταξύ του 90 και 98%, η δοκιμασία ELISA για τον προσδιορισμό των αντισωμάτων IgA έναντι της ιστικής τρανσγλουταμινάσης h-tTG θα μπορούσε (τουλάχιστον στον ενήλικα πληθυσμό) να αντικαταστήσει τις δοκιμασίες προσδιορισμού των αντισωμάτων έναντι της γλοιαδίνης, υπό την προϋπόθεση βέβαια ότι η εκλεκτική ανεπάρκεια της IgA ανοσοσφαιρίνης έχει αποκλειστεί. Η ανθρώπινη ιστική τρανσγλουταμινάση έχει πρόσφατα κλωνοποιηθεί και δοκιμασίες ELISA για την μέτρηση των IgA και IgG αντισωμάτων έναντι

του ανθρώπινου αντιγόνου, έχουν αναπτυχθεί. Αυτές οι δοκιμασίες φαίνεται να έχουν μεγαλύτερη ακρίβεια από αυτές που βασίζονται σε ιστική τρανσγλουταμινάση από ινδικό χοιρίδιο. Στην παρούσα μελέτη η ELISA χρησιμοποίησε κεκαθαρμένη ιστική τρανσγλουταμινάση από ανθρώπινα ερυθροκύτταρα. Επομένως, η δοκιμασία αντι-htTG πλεονεκτεί έναντι των AGA γιατί είναι υψηλότερης ευαισθησίας και ειδικότητας και έναντι των- με έμμεσο ανοσοφθορισμό προσδιοριζόμενων- EmA γιατί είναι προτυποποιημένη, απλή και αντικειμενική και άρα ευκολότερα εφαρμόσιμη σε ευρείας κλίμακας μελέτες [368]. Τα αντισώματα AGA εξακολουθούν να είναι η πιο ακριβής δοκιμασία για τα παιδιά κάτω των 2 ετών [272].

Σημαντικό εύρημα της μελέτης είναι ότι η δοκιμασία ανίχνευσης των αντισωμάτων έναντι του ενδομυίου (EmA) αποτελεί αξιόπιστο ορολογικό δείκτη για την κοιλιοκάκη. Στην παρούσα μελέτη όλα τα άτομα με θετικά τα αντισώματα EmA είχαν και βιοψία συμβατή με κοιλιοκάκη. Αυτό το αποτέλεσμα έρχεται σε συμφωνία με πολλές μελέτες που δείχνουν μια ειδικότητα των EmA της τάξης του 100% [294, 295, 296, 297, 300, 363] και στηρίζει την αξία της ως επιβεβαιωτικής δοκιμασίας στον αλγόριθμο διερεύνησης της κοιλιοκάκης. Ωστόσο, υπάρχουν και μελέτες που δεν έχουν δείξει μια τόσο εξαιρετική διαγνωστική ικανότητα για την δοκιμασία αντι-EmA [310, 323, 343], γεγονός που υποδηλώνει την ανάγκη για σταντάρισμα των μεθόδων της δοκιμασίας. Εξάλλου όταν υπάρχει υποψία κοιλιοκάκης βάσει των κλινικών συμπτωμάτων και /ή σημείων, μια βιοψία λεπτού εντέρου θα πρέπει πάντα να εκτελείται για την επιβεβαίωση της διάγνωσης, ανεξάρτητα από ένα αρνητικό αποτέλεσμα οποιουδήποτε ορολογικού δείκτη.

Στην παρούσα μελέτη 12 άτομα από τα 2230 που ελέγχθηκαν ήταν IgA αντι-tTG θετικά (ποσοστό 0,54%) και από αυτά τα 4 είχαν και θετικά IgA EmA αντισώματα και βιοψία συμβατή με κοιλιοκάκη. Στους υπόλοιπους 8 IgA αντι-tTG θετικούς δεν έγινε βιοψία λεπτού εντέρου για τον επιβεβαίωση της διάγνωσης της νόσου, ωστόσο η κοιλιοκάκη αποκλείστηκε βάσει της αρνητικής δοκιμασίας IgA EmA. Η αρνητική διαγνωστική αξία μιας αρνητικής δοκιμασίας EmA είναι γνωστό ότι είναι επαρκώς υψηλή [156, 257] για να επιτρέψει την υπόθεση ότι τα άτομα που είναι αρνητικά για τα αντισώματα EmA είναι και ελεύθερα νόσου. Εξάλλου δεν είναι η πρώτη μελέτη που να αναφέρει μια χαμηλή ειδικότητα των αντι-tTG αντισωμάτων. Αυτή μπορεί να οφείλεται στην



χρήση τρανσγλουταμινάσης από το ήπαρ ινδικού χοιριδίου ως υποστρώματος [370], όπως και στη συνύπαρξη νόσων, όπως ο σακχαρώδης διαβήτης, τα αυτοάνοσα νοσήματα όπως και οι χρόνιες ηπατοπάθειες [371,372]. Εμείς χρησιμοποιήσαμε ως υπόστρωμα κεκαθαρμένη τρανσγλουταμινάση από ανθρώπινα ερυθροκύτταρα. Δεν διαπιστώθηκαν από το ιστορικό συνυπάρχουσες νόσοι στα αντι-tTG θετικά - EmA αρνητικά άτομα, τους προτάθηκε, όμως, λεπτομερέστερος έλεγχος και βρίσκονται υπό παρακολούθηση για μελλοντική ανάπτυξη κοιλιοκάκης. Και τούτο διότι, δεν μπορεί στα άτομα αυτά, να αποκλειστεί οριστικά και το ενδεχόμενο λανθάνουσας κοιλιοκάκης, που στο μέλλον θα αναπτύξουν όλο το φάσμα εκδηλώσεων της νόσου, καθώς πολλά αυτοαντισώματα μπορεί να ανιχνευθούν πολλά χρόνια πριν από την κλινική έναρξη μίας αυτοανόσου νόσου [374]. Επιπροσθέτως, τα πιθανώς 'ψευδώς θετικά' αντι-tTG αντισώματα ανιχνεύθηκαν, στην μελέτη μας σε άτομα μεγαλύτερης ηλικίας (μέση ηλικία 60 έτη) σε σύγκριση με τα αληθώς θετικά αντισώματα. Πράγματι η μεγάλη ηλικία έχει βρεθεί να σχετίζεται ανεξάρτητα με την ανίχνευση των αντι-tTG, όπως εξάλλου είναι γνωστό ότι σχετίζεται και με αυξημένο επιπολασμό μη-όργανο-ειδικών αυτοαντισωμάτων και αυτοανόσων φαινομένων [374].

Η IgG h-tTG συνηθέστερα χρησιμοποιείται για τα παιδιά που η διάγνωση της κοιλιοκάκης γίνεται σε ηλικία μικρότερη των 2 ετών και μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως επαρκώς ευαίσθητο υποκατάστατο αντί της IgA h-tTG σε παιδιά με IgA ανεπάρκεια. Βάσει, περιορισμένου αριθμού μελετών, τα IgA EmA και IgG h-tTG, μπορεί να είναι καλύτερα για την ανίχνευση της κοιλιοκάκης σε άτομα με εκλεκτική IgA ανεπάρκεια, επειδή και τα δύο παρουσιάζουν μεγαλύτερη ευαισθησία και ειδικότητα από τα IgG AGA για την ανίχνευση σε συμπτωματικούς ασθενείς [262,374]. Ωστόσο, περισσότερες μελέτες απαιτούνται για να καθοριστεί η ακρίβεια των IgG h-tTG δοκιμασιών. Μέχρι τότε, εάν ένα συμπτωματικό άτομο είναι γνωστό ότι έχει εκλεκτική IgA ανεπάρκεια θα ήταν προτιμότερο να προχωρεί άμεσα σε βιοψία λεπτού εντέρου για την επιβεβαίωση ή τον αποκλεισμό της διάγνωσης. Σε πληθυσμιακές μελέτες, ωστόσο όπου τα άτομα είναι μάλλον ασυμπτωματικά, σίγουρα ο προσδιορισμός των IgA EmA και IgG h-tTG έχουν κάποια θέση για την ανίχνευση πιθανών ασθενών με κοιλιοκάκη και συνυπάρχουσα εκλεκτική IgA ανεπάρκεια. Στην παρούσα μελέτη, όσον αφορά την δοκιμασία IgG h-tTG, η ευαισθησία, η ειδικότητα και η διαγνωστική της αξία δεν αποδείχθηκαν τέτοια ώστε να μπορεί να αντικαταστήσει τη δοκιμασία

IgG AGA για τα άτομα με εκλεκτική IgA ανεπάρκεια και δεν την καθιστούν τόσο χρήσιμη για τους ομαδικούς ελέγχους του γενικού πληθυσμού. Κανένα από τα θετικά IgG αντι-tTG δείγματα δεν αποδείχθηκε και EmA θετικό αλλά επιπροσθέτως δεν αφορούσε άτομα με ανεπάρκεια της IgA, όπως είχε δείξει ο αρχικός προσδιορισμός της ολικής IgA σε όλα τα δείγματα. Πρέπει, ωστόσο να σημειωθεί ότι ένα ποσοστό ασθενών με κοιλιοκάκη και εκλεκτική ανεπάρκεια της ανοσοσφαιρίνης IgA είναι αρνητικοί όχι μόνο για τα αντισώματα IgA όπως εξάλλου αναμένεται αλλά και για τα IgG, δεικνύοντας ότι η αναζήτηση για αυτά τα αντισώματα δεν βοηθά απαραίτητως στην ορολογική διάγνωση της κοιλιοκάκης [375,376].

Ένα επίσης σημαντικό στοιχείο που προέκυψε από αυτή την μελέτη είναι ότι όλα τα άτομα που ήταν IgA EmA θετικά και με την βιοψία επιβεβαιώθηκε η διάγνωση της κοιλιοκάκης είχαν και τον γονότυπο τον χαρακτηριστικό της νόσου. Πράγματι, όπως ισχύει και για το ποσοστό του 95% των κοιλιοκακικών [65], η γονιδιακή τυποποίηση των 4 ατόμων με τα ιστολογικά ευρήματα τα τυπικά της εντεροπάθειας εκ γλουτένης, έδειξε ότι όλοι είχαν τα αλληλικά HLA - DQ2. Αυτό και μόνο το εύρημα (του γενετικού υποστρώματος των HLA -DQ2) ενισχύει ακόμη περισσότερο την διάγνωση και φαίνεται ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε αλγόριθμους ομαδικών ελέγχων. Λίγες επιδημιολογικές μελέτες έχουν περιλάβει στον αλγόριθμό τους την HLA γονιδιακή τυποποίηση [355,368], η οποία είναι αφενός μια ακριβή δοκιμασία για να εφαρμοστεί σε μεγάλους πληθυσμούς, αφετέρου είναι ιδιαίτερα χρήσιμη. Έτσι έχει βρεθεί ότι εάν ένα άτομο με θετικό κάποιο από τους ορολογικούς δείκτες αλλά με απουσία των αλληλίων HLA -DQ2 ή -DQ8 έχει πολύ μικρή πιθανότητα να έχει τη νόσο και άρα μπορεί να παραληφθεί η επιβεβαίωση με την διενέργεια της βιοψίας του λεπτού εντέρου, όπως επίσης αντίστοιχα εάν ένα άτομο έχει θετικό κάποιον ορολογικό δείκτη και φέρει και τα τυπικά αλληλικά τότε η πιθανότητα της κοιλιοκάκης είναι πολύ μεγάλη και επιβάλλεται η διενέργεια βιοψίας. Αν και μερικές φορές η παρουσία των αλληλίων HLA -DQA1\*0501/DQB1\*0201 με κάποιον θετικό ορολογικό δείκτη, ακόμη και επί απουσίας βιοψίας, σε συνδυασμό με υποχώρηση των συμπτωμάτων μετά την υιοθέτηση της δίαιτας ελεύθερης γλουτένης μπορεί να στηρίξει διάγνωση κοιλιοκάκης [368].

Η εκλεκτική IgA ανεπάρκεια παρατηρείται σε ποσοστό 1,7%-2,6% των ασθενών με κοιλιοκάκη, μια συχνότητα δέκα έως δεκάξι φορές

υψηλότερη από αυτή του γενικού πληθυσμού [234]. Τα άτομα με εκλεκτική IgA ανεπάρκεια και κοιλιοκάκη δεν θα έχουν IgA αντισώματα ( EmA, AGA, αντι-tTG ), αλλά συνήθως έχουν υψηλούς τίτλους IgG αντισωμάτων. Για να διαγνωστεί η κοιλιοκάκη στα άτομα με εκλεκτική IgA ανεπάρκεια, ο προσδιορισμός της ολικής IgA ανοσοσφαιρίνης του ορού θα πρέπει να περιληφθεί στον αλγόριθμο διερεύνησης. Στην παρούσα μελέτη ο προσδιορισμός της ολικής IgA έγινε σε όλα τα υπό εξέταση δείγματα. Δεν διαπιστώθηκαν άτομα με εκλεκτική IgA ανεπάρκεια, ούτε μεταξύ των ατόμων με θετικά τα αντισώματα IgG αντι-tTG. Αυτό πιθανόν οφείλεται σε μια χαμηλή συχνότητα της IgA ανεπάρκειας στον συγκεκριμένο πληθυσμό.

Η παρούσα μελέτη έχει ορισμένα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά:

I. Βασίζεται στον ομαδικό έλεγχο του ενήλικα γενικού πληθυσμού,

II. Ο στόχος του ομαδικού ελέγχου ήταν ο γενικός πληθυσμός της κοινότητας και όχι κάποια ομάδα υψηλού κινδύνου ή κάποια ομάδα με ιδιαίτερα χαρακτηριστικά, όπως για παράδειγμα επιλεγμένες ομάδες ενηλίκων ( π.χ. αιμοδότες)

III. Ο έλεγχος περιέλαβε άτομα από όλες τις ηλικιακές ομάδες ενηλίκων, καθώς είναι γενικά αποδεκτό ότι εάν ο ομαδικός έλεγχος-screening-διενεργηθεί μόνο στην ομάδα των νεαρότερων ηλικιών, μπορεί να χαθούν περιστατικά με καθυστερημένη έναρξη, και όπως έχει δειχθεί από κάποιες μελέτες ένα σημαντικό ποσοστό ασθενών πρωτοεμφανίζουν συμπτώματα μετά την ηλικία των 60 χρόνων [2]. Από την άλλη πλευρά, εάν στην μελέτη περιληφθούν μόνο άτομα μεγάλης ηλικίας τότε μπορεί να είναι αργά για την εφαρμογή μιας προληπτικής παρέμβασης.

IV. Στον αλγόριθμο διερεύνησης περιλήφθηκε και ο προσδιορισμός των HLA απλοτύπων, ο οποίος φαίνεται ότι επιπλέον στηρίζει τη διάγνωση αν και το διαγνωστικό 'gold stadard' παραμένει η βιοψία λεπτού εντέρου.

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης είναι εν μέρει αντιπροσωπευτικά και του μοντέλου του 'παγόβουνου'. Και τα 4 νέα περιστατικά δεν είχαν διαγνωστεί νωρίτερα, και από αυτά τα 2 ήταν τελείως ασυμπτωματικά και θα μπορούσαν να ταξινομηθούν στην σιωπηλή μορφή της κοιλιοκάκης, ενώ τα άλλα 2 άτομα είχαν άτυπη συμπτωματολογία, ταξινομούμενα, ως εκ τούτου στην άτυπη ή ολιγοσυμπτωματική μορφή της νόσου. Η κοιλιοκάκη φαίνεται ότι

παραμένει συχνά αδιάγνωστη ενώ έχει πολλές μακροπρόθεσμες επιπλοκές. Βάσει πολλών μελετών, έχει γίνει σαφές ότι πολλές – αλλά όχι όλες – οι περιπτώσεις που έχουν ανιχνευθεί μέσω των ομαδικών ελέγχων, είναι στην πράξη όχι σιωπηλές αλλά περιπτώσεις που έχουν διαφύγει της σωστής διάγνωσης [337,348].

Ακόμη και χωρίς μια ανάλυση κόστους – ωφέλειας, είναι ανάγκη, προκειμένου να αποκαλυφθεί μεγάλο μέρος του ‘παγόβουνου’ της κοιλιοκάκης, να υπάρχει ένας χαμηλός ουδός για τη διενέργεια ορολογικών εξετάσεων λαμβάνοντας υπόψη το ευρύ φάσμα των συμπτωμάτων της κοιλιοκάκης. Όταν η κλινική υποψία για την κοιλιοκάκη είναι ισχυρή, μια βιοψία λεπτού εντέρου θα πρέπει να εκτελείται ανεξαρτήτως των αποτελεσμάτων των ορολογικών δεικτών. Όταν η κοιλιοκάκη θεωρείται ως μια από τις πολλές εναλλακτικές διαγνώσεις, ένας αλγόριθμος διερεύνησης όπως αυτός που έχει εφαρμοστεί σε αυτή την μελέτη, θα μπορούσε να είναι χρήσιμος στην καθημερινή κλινική πράξη όπως και για τον ομαδικό έλεγχο ειδικών ομάδων.

Αρα η επιδημιολογική προσέγγιση που προτείνεται, προς το παρόν, για την κοιλιοκάκη είναι αυτή της συστηματικής ανίχνευσης περιπτώσεων κοιλιοκάκης ( case-finding ) μεταξύ των ασθενών με συμπτώματα και/ή καταστάσεις που είναι γνωστό ότι σχετίζονται με την κοιλιοκάκη. Σε αυτήν την προσέγγιση ο ρόλος των γιατρών της Πρωτοβάθμιας Φροντίδας Υγείας είναι καθοριστικός, γιατί είναι οι γιατροί της πρώτης και συνεχούς επαφής με τον ασθενή.

Συμπερασματικά, στην πρώτη αυτή μελέτη ομαδικού ελέγχου του ενήλικα γενικού πληθυσμού για την κοιλιοκάκη στην Ελλάδα, η υπολογιζόμενη συχνότητα της νόσου φαίνεται να βρίσκεται μεταξύ των συχνοτήτων που έχουν βρεθεί και σε άλλες Ευρωπαϊκές χώρες, αν και προσεγγίζει τα χαμηλότερα όρια. Ένας αλγόριθμος, όπως αυτός που χρησιμοποιήθηκε σε αυτήν την μελέτη, με πρώτο βήμα τον υπολογισμό της ολικής IgA ανοσοσφαιρίνης ακολουθούμενο από τον προσδιορισμό των αντισωμάτων αντι-tTG σε δεύτερο επίπεδο, αντί του παλιότερου προσδιορισμού των αντισωμάτων έναντι γλοιαδίνης, και των αντισωμάτων EmA σε τρίτο επίπεδο για την επιβεβαίωση των θετικών δειγμάτων θα μπορούσε να είναι χρήσιμος στην καθημερινή κλινική πράξη όταν η κλινική υποψία για την κοιλιοκάκη δεν είναι ισχυρή όπως και για τον ορολογικό ομαδικό έλεγχο ειδικών ομάδων κινδύνου. Η γονιδιακή τυποποίηση των HLA μπορεί να στηρίξει μια πιθανή

διάγνωση κοιλιοκάκης, αν και το διαγνωστικό gold stadard της νόσου παραμένει η βιοψία του λεπτού εντέρου. Εξαιτίας της νοσηρότητας που σχετίζεται με την αθεράπευτη κοιλιοκάκη και της αδικαιολόγητα καθυστερημένης διάγνωσης της, οι ορολογικοί ομαδικοί έλεγχοι είναι σημαντικοί για την πρόληψη τόσο του κοινωνικού όσο και του ατομικού κόστους αλλά και για τη βελτίωση της ποιότητας ζωής των δυνητικά νοσούντων. Η ανάγκη εφαρμογής προγραμμάτων ομαδικού ελέγχου του γενικού πληθυσμού για την κοιλιοκάκη δεν προέκυψε από τα αποτελέσματα της μελέτης, ωστόσο μια συστηματική ανίχνευση ( case-finding ) των περιπτώσεων κοιλιοκάκης με ελέγχους ειδικών ομάδων, είναι η καλύτερη επιδημιολογική προσέγγιση. Η ευαισθητοποίηση των γιατρών όλων των ειδικοτήτων, αλλά κυρίως των γιατρών της Πρωτοβάθμιας Φροντίδας Υγείας που είναι οι γιατροί της πρώτης και συνεχούς επαφής με τον πληθυσμό της κοινότητας, για την αναζήτηση της νόσου και τη διενέργεια των απαραίτητων ορολογικών εξετάσεων, θα οδηγήσει στην αποκάλυψη του «παγόβουνου της κοιλιοκάκης» και στην έγκαιρη ανίχνευση της νόσου, συμβάλλοντας στη μείωση της νοσηρότητας και των επιπλοκών της κοιλιοκάκης.



## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. SOLLID LM. Coeliac disease: dissecting a complex inflammatory disorder. *Nat Rev Immunol* 2002, 2:647-55.
2. HANKEY GL, HOLMES GK. Coeliac disease in the elderly. *Gut* 1994,35:65-7.
3. FEIGHERY C. Coeliac disease ( clinical review). *BMJ* 1999,319:236-39.
4. ROSSI TM, ALBINI CH, KUMAR V. Incidence of celiac disease identified by the presence of serum endomysial antibodies in children with chronic diarrhea, short stature, or insuline-dependent diabetes melitus. *J Pediatr* 1993,123:262-4.
5. CORRAO G, CORAZZA GR, BAGNARDI V, et al. Mortality in patients with coeliac disease and their relatives: a cohort study. *Lancet* 2001,358:356-61.
6. HORVATH K, HILL ID. Anti-tissue transglutaminase antibody as the first line screening for celiac disease: Good-bye antigliadin tests? *Am J Gastroenterol* 2002,97:2702-4.
7. MURRAY JA. Serodiagnosis of celiac disease. *Clin Lab Med* 1997,17:445-69.
8. DIETERICH W, EHNS T, BAUER M, et al. Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. *Nat Med* 1997;3:797-801.
9. MOLBERG O, Mc ADAM SN, SOLLID LM. Role of tissue transglutaminase in celiac disease ( Review ). *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000,30:232-40.
10. HILL I, FASANO A, SHWARTZ R, et al. The prevalence of celiac disease in at-risk groups of children in the United States. *J Pediatr* 2000,2:647-55.
11. LOGAN RFA. Epidemiology of coeliac disease. In: Marsh MM, ed. *Coeliac disease*. Oxford: Blackwell, 1992:192-214.
12. FASANO A, CATASSI C. Current approaches to diagnosis and treatment of celiac disease : an evolving spectrum. *Gastroenterology* 2001,120:636-651.
13. ROKKAS T, KARAMERIS A. The usefulness of endoscopy in diagnosing celiac disease in Greece (letter). *Gastrointest Endosc* 2000,52:451.
14. TRIER JS. Diagnosis of celiac sprue. *Gastroenterology* 1998,115:211.
15. TRIER JS. Celiac sprue. *N Engl J Med* 1991;325:1709-19.
16. FARRELL RJ, KELLY CP. Diagnosis of celiac sprue. *Am J Gastroenterol* 2001,96:3237-3246.
17. ARRANZ E, FERGUSON A. Intestinal antibody pattern of celiac disease: occurrence in patients with normal jejunal biopsy histology. *Gastroenterology* 1993,104:1263 .
18. GEE S. On the celiac affection. *St Bartholomew's Hospital Journal* 1888,24:17-20.
19. DICKE W. Coeliac Disease: Investigation of Harmful Effects of Certain Types of Cereal on Patients with Coeliac Disease. The Netherlands, University of Utrecht, 1950.
20. VAN DE KAMER JH, WEIJERS HA, DICKE WK. Coeliac disease. IV. An investigation into the injurious constituents of wheat in connection with their action in patients with coeliac disease. *Acta Paediatr* 1953,42:223.
21. PAULLEY L. Observations on the aetiology of idiopathic steatorrhea. *BMJ* 1954,2:1318.
22. RUBIN CE, BRANDBORG LL, PHELPS PC, et al. Studies of celiac disease. I. The apparent identical and specific nature of the duodenal and proximal jejunal lesion in celiac disease and idiopathic sprue. *Gastroenterology* 1960,38:28.
23. HOWELL MD, AUSTIN RK, KELLEHER D, et al. An HLA-D region restriction fragment length polymorphism associated with celiac disease. *J Exp Med* 1986,164:333.
24. LUNDIN KE, SCOTT H, HANSEN T, et al. Gliadin-specific, HLA-DQ ( alpha 1\*0501, beta1\*0201) restricted T-cells isolated from the small intestinal mucosa of celiac disease patients. *J Exp Med* 1993,178:187.
25. MOLBERG O, McADAM SN, KORNER R, et al. Tissue transglutaminase selectively modifies gliadin peptides that are recognized by gut-derived T cells in celiac disease. *Nat Med* 1998,4:713.
26. ANDERSON RP, DEGANI P, GODKIN AJ, et al. In vivo antigen challenge in celiac disease identifies a single transglutaminase-modified peptide as the dominant A-gliadin T-cell epitope. *Nat Med* 2000,6:337.



27. WIESER H. The precipitating factor in celiac disease. *Baillieres Clin Gastroenterol* 1995;9:191-207.
28. KAGNOFF MF. Celiac disease. A gastrointestinal disease with environmental, genetic, and immunologic components. *Gastroenterol Clin North Am* 1992;21:405-425.
29. KAGNOFF MF. Coeliac disease: genetic, immunological and environmental factors in disease pathogenesis. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1985;114:45-54.
30. KAGNOFF MF. Immunopathogenesis of celiac disease. *Immunol Invest* 1989;18:499-508.
31. KAGNOFF MF. Understanding the molecular basis of coeliac disease. *Gut* 1990;31:497-499.
32. KAGNOFF MF. Celiac disease pathogenesis: the plot thickens. *Gastroenterology* 2002;123:939-943.
33. MOLBERG O, SOLHEIM FLAETE N, JENSEN T, LUNDIN KE, et al. Intestinal T-cell responses to high-molecular-weight glutenins in celiac disease. *Gastroenterology* 2003;125:337-344.
34. VAN DE WY, KOOY YM, VAN VEELLEN P, VADER W et al. Glutenin is involved in the gluten-driven mucosal T cell response. *Eur J Immunol* 1999;29(10):3133-9.
35. SHEWRY PR, TATHAM AS, KASARDA DD. Cereal proteins and coeliac disease. In: Marsh MN, ed. *Coeliac disease*. London: Blackwell Scientific Publications, 1992:305-342.
36. KASARDA DD. Gluten and gliadin: precipitating factors in coeliac disease. In: Maki M, Collin P, Visakorpi JK, eds. *Coeliac disease*. Tampere, Finland: Coeliac Study Group Institute of Medical Technology, 1997:195-212.
37. De VINCENZI M, LUCHETTI R, PERUFFO AD, et al. In vitro assessment of acetic-acid-soluble proteins (glutenin) toxicity in celiac disease. *J Biochem Toxicol* 1996;11:205.
38. JANATUINEN EK, KEMPPAINEN TA, JULKUNEN RJ, et al. No harm from five-year ingestion of oats in coeliac disease. *Gut* 2002;50:332-335.
39. HOGBERG L, LAURIN P, FALTH-MAGNUSSON K, GRANT C, GRODZINSKY E, LANSOON G, et al. Oats to children with newly diagnosed coeliac disease: a randomised double blind study. *Gut* 2004;53:649-654.
40. JONES RW, TAYLOR NW, SENTI FR. Electrophoresis and fractionation of wheat gluten. *Arch Biochem Biophys* 1959;84:363-76.
41. SHEWRY PR, TATHAM AS, FORDE J, et al. The classification and nomenclature of wheat proteins: a reassessment. *J Cer Sci* 1986;4:97-106.
42. HOWDLE PD, CORAZZA GR, BULLEN AW, LOSOWSKY MS. Gluten sensitivity of small intestinal mucosa in vitro: quantitative assessment of histologic change. *Gastroenterology* 1981;80:442-50.
43. ELLIS HJ, CICLITIRA PJ. In vivo gluten challenge in celiac disease. *Can J Gastroenterol* 2001;15:243-7.
44. LAHTEENNOJA H, MAKI M, VIANDER M, RAIHA I, et al. Local challenge on oral mucosa with an alpha-gliadin related synthetic peptide in patients with celiac disease. *Am J Gastroenterol* 2000;95:2880-7.
45. VAN DE WY, KOOY YM, VAN VEELLEN PA, PENA SA et al. Small intestinal T cells of coeliac disease patients recognize a natural pepsin fragment of gliadin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95(17):10050-4.
46. ARENTZ-HANSEN H, KORNER R, MOLBERG O, QUARSTEN H et al. The intestinal T cell response to alpha-gliadin in adult coeliac disease is focussed on a single deamidated glutamine targeted by tissue transglutaminase. *J Exp Med* 2000;191(4):603-12.
47. SJOSTROM H, LUNDIN KEA, MOLBERG O, et al. Identification of a gliadin T-cell epitope in coeliac disease: general importance of gliadin deamidation for intestinal T-cell recognition. *Scand J Immunol* 1998;48:111-5.
48. MAZZARELLA G, MAGLIO M, PAPARO F, NARDONE G, STEFANILE R, GRECO L, et al. An immunodominant DQ8 restricted gliadin peptide activates small intestinal immune response in in vitro cultured mucosa from HLA-DQ8 positive but not HLA-DQ8 negative coeliac patients. *Gut* 2003;52:57-62.
49. VAN DE WAL Y, KOOY YMC, VAN VEELLEN P, MEARIN L, et al. Selective deamidation by tissue transglutaminase strongly enhances gliadin-specific T cell reactivity. *J Immunol* 1998;161:1585-8.
50. HAUSCH F, SHAN L, SANTIAGO KA, GRAY GM, KHOSLA C. Intestinal digestive resistance of immunodominant gliadin peptides. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002;283:G996-G1003.

51. SHAN L, MOLBERG O, PARROT I, HAUSCH F, FILIZ F, GRAY GM, SOLLID LM, KHOSLA C. Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue. *Science* 2002;297:2275-2279.
52. GJERSTEN HA, LUNDIN KE, SOLLID LM, ERIKSEN JA, THORSBY E. T cells recognise a peptide derived from alpha-gliadin presented by the coeliac disease-associated HLA-DQ (alpha 1\*0501, beta 1\*0201) heterodimers. *Hum Immunol* 1994;39(4):243-52.
53. LUNDIN KE, SOLLID LM, ANTHONSEN D, NOREN O et al. Heterogeneous reactivity patterns of HLA-DQ-restricted, small intestinal T-cell clones from patients with coeliac disease. *Gastroenterology* 1997;112(3):752-9.
54. PICARELLI A, DI TOLA M, SABBATELLA L, ANANIA MC et al. 31-43 amino acid sequence of the alpha-gliadin induces anti-endomysial antibody production during in vitro challenge. *Scand J gastroenterol* 1999;34(11):1099-102.
55. SHIDRAWI RG, DAY P, PRZEMIOSLO R, ELLIS HJ et al. In vitro toxicity of gluten peptides in coeliac disease assessed by organ culture. *Scand J Gastroenterol* 1995;30(8):758-63.
56. STURGES R, DAY P, ELLIS HJ, LUNDIN KE et al. Wheat peptide challenge in coeliac disease. *Lancet* 1994;343(8900):758-61.
57. VAN DE WAL, KOOY YMC, DRIFTHOUT JW, AMONS R, et al. Peptide binding characteristics of the coeliac disease-associated DQ(alpha 1\*0501, beta 1\*0201) molecule. *Immunogenetics* 1996;44:246-53.
58. KAGNOFF MF, PATERSON YJ, KUMAR PJ, et al. Evidence for the role of a human intestinal adenovirus in the pathogenesis of coeliac disease. *Gut* 1987;28:995.
59. ARATO A, KOSNAI I, SZONYI L, et al. Frequent past exposure to adenovirus 12 in coeliac disease. *Acta Paediatr Scand* 1991;80:1101.
60. SHDRAWI RG, DAY P, PRZEMIOSLO R, et al. In vitro toxicity of gluten peptides in coeliac disease assessed by organ culture. *Scand j Gastroenterol* 1995;30:758.
61. SCHUPPAN D. Current concepts of celiac disease pathogenesis. *Gastroenterology* 2000;119:234.
62. SCMITZ J. Lack of oats toxicity in coeliac disease. *BMJ* 1997;14:159.
63. WEILE B, CAVELLB, NIVENIUS K, et al. Striking differences in the incidence of childhood celiac disease between Denmark and Sweden: A plausible explanation. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1995;21:64.
64. GRECO L, ROMINO R, COTO I, DI COSMO N, et al. The first large population based twin study of coeliac disease. *Gut* 2002;50:624-628.
65. KAGNOFF MF. HLA genes in coeliac disease. In: Auricchio SGL, Mauiri L, Troncone R, eds. *Coeliac disease*. Naples, Italy: JCG Editions, 2000:5-14.
66. SOLLID LM, THORSBY E. HLA susceptibility genes in celiac disease: genetic mapping and role in pathogenesis. *Gastroenterology* 1993;910-22.
67. KARELL K, LOUKA AS, MOODIE SJ, ASCHER H, CLOT F, GRECO L, CICLITIRA PJ, SOLLID LM, PARTANEN J. HLA types in celiac disease patients not carrying the DQA1\*05-DQB1\*02(DQ2) heterodimer: results from the European Genetics Cluster on Celiac Disease. *Hum Immunol* 2003;64:469-477.
68. MARGARITTE-JEANNIN P, BABRON MC, BOURGEY M, LOUKA AS, et al. HLA-DQ relative risks for coeliac disease in European populations: a study of the European Genetics Cluster on Coeliac Disease. *Tissue Antigens* 2004;63:562-567.
69. LOUKA AS, SOLLID LM. HLA in coeliac disease: unraveling the complex genetics of a complex disorder. *Tissue Antigens* 2003;61:105-117.
70. MAZZARELLA G, MAGLIO M, PAPARO F, NARDONE G, STEFANILE R, GRECO L, et al. An immunodominant DQ8 restricted gliadin peptide activates small intestinal immune response in in vitro cultured mucosa from HLA-DQ8 positive but not HLA-DQ8 negative coeliac patients. *Gut* 2003;52:57-62.
71. KAGNOFF MF, HARWOOD LI, BUGAWAN TL, ERLICH HA. Structural analysis of the HLA-DR, -DQ, and -DP alleles on the celiac disease-associated HLA-DR3 (DRw17) haplotype. *Proc Natl acad Sci U S A* 1989;86:6274-6278.
72. SOLLID LM, THORSBY E. The primary association of celiac disease to a given HLA-DQ  $\alpha\beta$  heterodimer explains the divergent HLA-DR associations observed in various Caucasian populations. *Tissue Antigens* 1990;36:136-137.
73. VADER W, STEPANIAK D, KOOY Y, MEARIN L, et al. The HLA-DQ2 gene dose effect in celiac disease is directly related to the magnitude and breadth of gluten-specific T cell responses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:12390-12395.

74. PLOSKI R, EK J, THORSBY E, SOLLID LM. On the HLA-DQ( $\alpha 1^*0501$ ,  $\beta 1^*0201$ )-associated susceptibility in celiac disease: a possible gene dosage effect of DQB1\*0201. *Tissue Antigens* 1993;41:173-177.
75. LOUKA AS, NILSSON S, OLSSON M, TALSETH B, et al. HLA in coeliac disease families: a novel test of risk modification by the "other" haplotype when at least one DQA1\*05-DQB1\*02 haplotype is carried. *Tissue Antigens* 2002;60:147-154.
76. NILSEN EM, LUNDIN KE, KRAJCI P, et al. Gluten specific, HLA-DQ restricted T cells from celiac mucosa produce cytokines with Th1 or Th0 profile dominated by interferon gamma. *Gut* 1995;37:766.
77. PETRONZELLI F, BONAMICO M, FERRANTE P, et al. Genetic contribution of the HLA region to the familial clustering of coeliac disease. *Ann Hum Genet* 1997;61:307.
78. DIJILALI-SAlAH I, SCHMITZ J, HARFOUCH-HAMMOND E, MOUGENOT JF et al.: CTLA-4 gene polymorphism is associated with predisposition in coeliac disease. *Gut* 1998;43:187-9.
79. NALUI AT, NILSSON S, SAMUELSSON L, GUDJONSDOTTIR AH et al. The CTLA-4/CD28 gene region on chromosome 2q33 confers susceptibility to coeliac disease in a way possibly distinct from that of type I diabetes and other chronic inflammatory disorders. *Tissue Antigens* 2000;56:350-5
80. HOLOPAINEN P, ARVAS M, SISTONEN P, MUSTALAHTI K et al. CD28/CTLA-4 gene region on chromosome 2q33 confers genetic susceptibility to coeliac disease: a linkage and family-based association study. *Tissue Antigens* 1999;53:470-5.
81. KING AL, MOODIE SJ, FRASER JS, CURTIS D et al. CTLA4/CD28 gene region is associated with genetic susceptibility to coeliac disease in UK families. *J Med Genet* 2002;39:51-4.
82. WATERHOUSE P, PENNINGER JM, TIMMS E, WAKEHAM A et al. Lymphoproliferative disorders with early lethality in mice deficient in CTLA-4. *Science* 1995;270:985-8.
83. HOULSTON RS, TOMLINSON IP, FORD D, et al. Linkage analysis of candidate regions for celiac disease genes. *Hum Mol Genet* 1997;6:1335.
84. LUNDIN KE, SOLLID LM, QVIGSTAD E, MARKUSSEN G, GJERTSEN HA, EK J, THORSBY E. T lymphocyte recognition of a celiac disease-associated cis- or trans-encoded HLA-DQ  $\alpha/\beta$ -heterodimer. *J Immunol* 1990;145:136-139.
85. LUNDIN KE, SCOTT H, FAUSA O, THORSBY E, SOLLID LM. T cells from the small intestinal mucosa of a DR4, DR7/DR4, DQ8 celiac disease patient preferentially recognize gliadin when presented by DQ8. *Hum Immunol* 1994;41:285-291.
86. JOHANSEN BH, JENSEN T, THORPE CJ, VARTDAL F, et al. Both  $\alpha$  and  $\beta$  chain polymorphisms determine the specificity of the disease-associated HLA-DQ2 molecules, with  $\beta$  chain residues being most influential. *Immunogenetics* 1996;45:142-150.
87. KAGNOFF MF. Overview and Pathogenesis of Celiac Disease. *Gastroenterol* 2005;128:S10-S18.
88. FLECKENSTEIN B, MOLBERG O, QIAO SW, SCHMID DG, et al. Gliadin T cell epitope selection by tissue transglutaminase in celiac disease. Role of enzyme specificity and pH influence on the transamidation versus deamidation process. *J Biol Chem* 2002;277:34109-34116.
89. FLECKENSTEIN B, QIAO SW, LARSEN MR, JUNG G, et al. Molecular characterization of covalent complexes between tissue transglutaminase and gliadin peptides. *J Biol Chem* 2004;279:17607-17616.
90. KASARDA DD. Gluten and gliadin: precipitating factors in coeliac disease. In: Maki M, Collin P, Visakorpi JK, eds. *Coeliac disease*. Tampere, Finland: Coeliac Study Group Institute of Medical Technology, 1997:195-212.
91. SCHUPPAN D, ESSLINGER B, DIETERICH W. Innate immunity and celiac disease. *Lancet* 2003;362:3-4.
92. VADER LW, STEPANIAK DT, BUNNIK EM, KOORY YM, et al. Characterization of cereal toxicity for celiac disease patients based on protein homology in grains. *Gastroenterology* 2003;125:1105-13.
93. WIESER H, SPRINGER G, BELITZ HD, ASHKENAZI A, et al. Toxicity of different wheat gliadins in celiac disease. *Z Lebensm Unters Forsch* 1982;175:321-6.
94. ARENTZ-HANSEN H, McADAM SN, MOLBERG O, et al. Celiac lesion T cells recognize epitopes that cluster in regions of gliadin rich in proline residues. *Gastroenterology* 2002;123:803-9.



95. VADER W, KOORY Y, VAN VEELEN P, et al. The gluten response in children with celiac disease is directed toward multiple gliadin and glutenin peptides. *Gastroenterology* 2002,122:1729-37.
96. GIANFRANI C, TRONCONE R, MUGIONE P, et al. Celiac disease association with CD8+ T cell responses : identification of a novel gliadin-derived HLA-DQ2-restricted epitope. *J Immunol* 2003,170:2719-26.
97. STERN M, CICLITIRA PJ, VAN ECKERT R, et al. Analysis and clinical effects of gluten in celiac disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001,13:741-7.
98. MARTUCCI S, CORAZZA GR. Spreading and focusing of gluten epitopes in celiac disease. *Gastroenterology* 2002,122:2072-5.
99. FOLK JE. Mechanism and basis for specificity of transglutaminase-catalyzed  $\epsilon$ -( $\gamma$ -glutamyl) lysine bond formation. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol* 1983,54:1-56.
100. FOLK JE, FINLAYSON JS. The  $\epsilon$ -( $\gamma$ -glutamyl) lysine crosslink and the catalytic role of transglutaminases. *Adv Protein Chem* 1977,31:1-133.
101. VADER LW, DE RU A, VAN DER WAL Y, et al. Specificity of tissue transglutaminase explains cereal toxicity in celiac disease. *J Exp Med* 2002,195:643-9.
102. ARENTZ-HANSEN H, FLECKENSTEIN B, MOLBERG O, et al. The molecular basis for oat intolerance in patients with celiac disease. *PLOS Med* 2004,1:84-92.
103. FRASER JS, ENGEL W, ELLIS HJ, MOODIE SJ, et al. Coeliac disease: in vivo toxicity of the putative immunodominant epitope. *Gut* 2003,52:1698-702.
104. BAKLIEN K, BRANDTZAEG P, FAUSA O. Immunoglobulins in jejunal mucosa and serum from patients with adult celiac disease. *Scand J Gastroenterol* 1977,12:149.
105. MAKI M. The humoral immune system in celiac disease. *Baillieres Clin Gastroenterol* 1995,9:231.
106. UIBO O, UIBO R, KLEIMOLAV, et al. Serum IgA anti-gliadin antibodies in an adult population sample. High prevalence without celiac disease. *Dig Dis Sci* 1993,38:2034.
107. CHORZELSKI TP, BEUTNER EH, SULEJ J, et al. IgA anti-endomysium antibody. A new immunological marker of dermatitis herpetiformis and celiac disease. *Br J Dermatol* 1984,111:395.
108. SZABOLES M, SIPKA S, CSORBA S, et al. In vitro cross-linking of gluten into high-molecular-weight polymers with transglutaminase. *Acta Paediatr Hung* 1987,28:215.
109. HALTTUNEN T, MAKI M. Serum immunoglobulin A from patients with celiac disease inhibits human T84 intestinal crypt epithelial cell differentiation. *Gastroenterology* 1999,116:566.
110. HALSTENSEN TS, SCOTT H, FAUSA O, et al. Gluten stimulation of celiac mucosa in vitro induces activation (CD25) of lamina propria CD4+ T cells and macrophages but no crypt-cell hyperplasia. *Scand J Immunol* 1993,38:581.
111. BRANDTZAEG P, HALSTENSEN TS, KETT K, et al. Immunobiology and immunopathology of human gut mucosa: humoral immunity and intraepithelial lymphocytes. *Gastroenterology* 1989,97:1562.
112. HALSTENSEN TS, SCOTT H, BRANDTZAEG P. Intraepithelial T cells of the TcR gamma/delta+CD8+ and V delta 1/J delta 1+ phenotypes are increased in celiac disease. *Scand J Immunol* 1989,30:665.
113. MACDONALD TT, SPENCER J. Evidence that activated mucosal T cells play a role in the pathogenesis of enteropathy in human small intestine. *J Exp Med* 1988,16:1341-9.
114. Di SABATINO A, CICCOCIOPPO R, D'ALO PARRONI R, MILLIMAGGI D, et al. Intraepithelial and lamina propria lymphocytes show distinct pattern of apoptosis whereas both populations are active in Fas based cytotoxicity in coeliac disease. *Gut* 2001,49:380-6.
115. MATYSIAK-BUDNIK T, CANDALH C, DUGAVE C, NAMANE A, et al. Alterations of the intestinal transport and processing of gliadin peptides in celiac disease. *Gastroenterology* 2003,125:696-707.
116. ZIMMER KP, NAIM H, WEBER P, ELLIS HJ, CICLITIRA PJ. Targeting of gliadin peptides , CD8, alpha/beta-TCR and gamma/delta-TCR to Golgi complexes and vacuoles within celiac disease enterocytes. *FASEB J* 1998,12:1349-57.
117. JABRI B, PATEY-MARIAUD DE SERRE N, CELLIER C, et al. Selective expansion of intraepithelial lymphocytes expressing the HLA-E-specific natural killer receptor CD94 in celiac disease. *Gastroenterology* 2000,118:867-79.
118. TAGAYA Y, BAMFORD RN, DEFILIPPIS AP, WALDMANN TA. IL-15: a pleiotropic cytokine with diverse receptor/signaling pathways whose expression is controlled at multiple levels. *Immunity* 1996,4:329-36.

119. REINECKER H, MACDERMOTT R, MIRAU S, DIGNASS A, PODOLSKY DK. Intestinal epithelial cells both express and respond to interleukin-15. *Gastroenterology* 1996,111:1706-13.
120. EBERT EC. Interleukin 15 is a potent stimulant of intraepithelial lymphocytes. *Gastroenterology* 1998,115:1439-45.
121. MAIURI L, CIACCI C, AURICCHIO S, BROWN V, et al. Interleukin 15 mediates epithelial changes in celiac disease. *Gastroenterology* 2000,119:996-1006.
122. MAIURI L, CIACCI C, VACCA L, RICCIARDELLI I, AURICCHIO S, et al. IL-15 drives the specific migration of CD94+ and TCR- $\gamma\delta$ + intraepithelial lymphocytes in organ cultures of treated celiac patients. *Am J Gastroenterol* 2001,96:150-6.
123. HUE S, MENTION JJ, MONTEIRO RC, et al. A direct role for NKG2D/MICA interaction in villous atrophy during celiac disease. *Immunity* 2004,21:367-77.
124. MAIURI L, CIACCI C, RICCIARDELLI, et al. Association between innate response to gliadin and activation of pathogenic T cells in coeliac disease. *Lancet* 2003,362:30-7.
125. VAN NIEL G, MALLEGOL J, BEVILACQUA C, et al. Intestinal epithelial exosomes carry MHC class II/peptides able to inform the immune system in mice. *Gut* 2003,52:1690-7.
126. CICCOCIOPPO R, et al. The immune recognition of gluten in celiac disease. *Clinical and Experimental Immunology* 2005,140:408-416.
127. QUARSTEN H, MOLBERG O, FYGGER L, McADAM SM, SOLLID LM. HLA-binding and T cell recognition of a tissue transglutaminase-modified gliadin epitope. *Eur J Immunol* 1999,29:2506-14.
128. MOLBERG O, McADAM SN, LUNDIN KEA, KRISTIENSEN C, et al. T cells from celiac disease lesions recognize gliadin epitopes deamidated in situ by endogenous tissue transglutaminase. *Eur J Immunol* 2001,31:1317-23.
129. CICCOCIOPPO R, DI SABATINO, BAUER M, et al. Matrix metalloproteinase pattern in celiac duodenal mucosa. *Laboratory Invest* 2005,85:397-407.
130. JABRI B, CELLIER C, PATEY N, SCHMITZ J, BROUSSE N, et al. Intraepithelial lymphocytes in coeliac disease. *Proceedings of the Eighth International Symposium on Coeliac Disease*. Naples, Italy, April 21-24, 1999.
131. DE RITIS G, AURICCHIO S, JONES HW, LEW EJ, et al. In vitro (organ culture) studies of the toxicity of specific A-gliadin peptides in celiac disease. *Gastroenterology* 1988,94:41-49.
132. MAIURI L, CIACCI C, RAIA V, et al. FAS engagement drives apoptosis of enterocytes of celiac patients. *Gut* 2001,48:418-24.
133. ROBERTS AJ, LEE L, SCHWARTZ E, et al. NKG2D receptors induced by IL-15 costimulate CD28-negative effector CTL in the tissue microenvironment. *J Immunol* 2001,167:5527-30.
134. FEHNIGER TA, SUZUKI K, VANDEUSEN JB, COOPER MA, et al. Fatal leukemia in interleukin-15 transgenic mice. *Blood Cells Mol Dis* 2001,27:223-30.
135. DRAGO S et al. Recent developments in the pathogenesis, diagnosis and treatment of celiac disease. *Expert Opin. Ther. Patents* 2002,12(1):45-51.
136. MADARA JL, TRIER JS. Structural abnormalities of jejunal epithelial cell membranes in celiac sprue. *Lab. Invest.* 1980,43:254-261.
137. SCHULZKE JD, BENTZEL CJ, SCHULZKE I, et al. Epithelial tight junction structure in the jejunum of children with acute and treated celiac sprue. *Ped. Res.* 1998,43:435-44.
138. WANG W, UZZAU S, GOLDBLUM SE, et al. Human zonulin, a potential modulator of intestinal tight junction. *J. Cell Sci* 2000,113:4435-40.
139. FASANO A, NOT T, WANG W, et al. Zonulin, a newly discovered modulator of intestinal permeability, and its expression in coeliac disease. *Lancet* 2000,358:1518-19.
140. VENTURA A, MAGAZZU G, GRECO L. Duration of exposure to gluten and risk for autoimmune disorders in celiac patients. *Gastroenterology* 1999,117:303-310.
141. CICLITIRA PJ. Celiac disease. In: Yamada T, Alpers D, Laine L, Owyang C, Powell D, eds. *Textbook of Gastroenterology*. (3<sup>rd</sup> edition). Philadelphia : Lippincott, Williams & Wilkins, 1999:1660-1676.
142. LOGAN RF, RIFKIND EA, TURNER ID, FERGUSON A. Mortality in celiac disease. *Gastroenterology* 1989,97:265-71.
143. SCHWEIZER JJ, OREN A, MEARIN ML. Cancer in children with celiac disease: a survey of the European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2001,33:97-100.
144. ANSALDI N, TAVASSOLI K, DELL'OLIO D, et al. Clinical data on celiac disease with an early or late onset. *Minerva Pediatr* 1991,43:377.

- 145.IVARSSON A, HERNELL O, STENLUND H, PERSSON LA, Breast-feeding protects against celiac disease. *Am J Clin Nutr* 2002;75:914-21.
- 146.ASCHER H, KRANTZ I, RYDBERG L, et al. Influence of infant feeding and gluten intake on coeliac disease. *Arch Dis Child* 1997;76:113.
- 147.CORAZZA GR, GASBARRINI G. Coeliac disease in adults. *Baillieres Clin Gastroenterol* 1995;9:329-50.
- 148.GREEN PHR, STAVROPOULOS SN, PANAGI SG, et al. Characteristics of adult celiac disease in the USA : results of a national survey. *Am L Gastroenterol* 2001;96:126-31.
- 149.LO W, SANO K, LEBWOHL B, DIAMOND B, GREEN PH. Changing presentation of celiac disease. *Dig Dis Sci* 2003;48:395-398.
- 150.VUORISTO M, MIETTINEN TA. The role of fat and bile acid malabsorption in diarrhea of coeliac disease. *Scand J Gastroenterol* 1998;22:535.
- 151.RHODES RA, TAI HH, CHEY WY. Impairment of secretin release in celiac sprue. *Am J Dig Dis* 1978;23:833.
- 152.MATON PN, SELDEN AC, FITZPATRICK ML. Defective gallbladder emptying and cholecystokinin release in celiac disease. Reversal by gluten -free diet. *Gastroenterology* 1985;88:391.
- 153.DICKEY W, BODKIN S. Prospective study of body mass index of patients with coeliac disease. *BMJ* 1998;317:1290.
- 154.LANKISCH PG, MARTINEZ SCHRAMM A, PETERSEN F, DROGE M, et al. Diagnostic intervals for recognizing celiac disease. *Z Gastroenterol* 1996;34:473-77.
- 155.SANDERS DS, CARTER MJ, HURLSTONE DP, et al. Association of adult coeliac disease with irritable bowel syndrome : a case-control study in patients fulfilling ROME II criteria referred to secondary care. *Lancet* 2001;358:1504-08.
- 156.FARRELL R, KELLY C. Celiac Sprue. *N Engl J Med* 2002;346:180-8.
- 157.GREEN PH, SHANE E, ROTTERDAM H, FORDE KA, GROSSBARD L. Significance of unsuspected celiac disease detected at endoscopy. *Gastrointest Endosc* 2000;51:60-65.
- 158.VASQUEZ H, MAZURE R, GONZALEZ D, et al. Risk of fractures in celiac disease patients: a cross-sectional, case-control study. *Am J Gastroenterol* 2000;95:183-9.
- 159.COLLIN P, VILSKA S, HEINONEN PK, et al. Infertility and coeliac disease. *Gut* 1996;39:382-4.
- 160.DE SANTIS A, ADDOLORATO G, ROMITO A, et al. Schizophrenic symptoms and SPECT abnormalities in a coeliac patient: regression after a gluten-free diet. *J Intern Med* 1997;242:421-3.
- 161.HADJIVASSILIOU M, GIBSON A, DAVIES-JONES GA, et al. Does cryptic gluten sensitivity play a part in neurological illness? *Lancet* 1996;347:369-71.
- 162.CIACCI C, CIRILLO M, SANINO G, SABBATINI F, MAZZACCA G. Gender and clinical presentation in adult celiac disease. *Scand j Gastroenterol* 1995;30:1077-81.
- 163.O'GRADY JG, STEVEHS FM, HARDING B, et al. Hyposplenism and gluten-sensitive enteropathy. Natural history, incidence, and relationship to diet and small bowel morphology. *Gastroenterology* 1984;87:132.
- 164.VALDIMARSSON T, TOSS G, ROSS I, LOFTMANN O, STROM M. Bone mineral density in coeliac disease. *Scand J Gastroenterol* 1994;29:457-61.
- 165.SCOTTA MS, SALVATORE S, SALVATONI A, et al. Bone mineralization and body composition in young patients with celiac disease. *Am J Gastroenterol* 1997;92:1331-34.
- 166.CORAZZA GR, DI SARIO A, CECCHETTI L, et al. Influence of pattern of clinical presentation and gluten-free diet on bone mass and metabolism in adult coelia disease. *Bone* 1996;18:525-30.
- 167.FICKLING WE, MCFARLANE XA, BHALLA AK, ROBERTSON DA. The clinical impact of metabolic bone disease in coeliac disease. *Postgrad Med J* 2001;77:33-36.
- 168.MEYER D, STAVROPOULOS S, DIAMOND B, SHANE E, GREEN PH. Osteoporosis in a north American adult population with celiac disease. *Am J Gastroenterol* 2001;96:112-19.
- 169.FARELL RJ, KELLY CP. Celiac sprue and refractory sprue. In: Feldman M, Friedman L.S, Sleisenger M.H. (eds). *Sleisenger & Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease: pathophysiology/diagnosis/management* (7<sup>th</sup> ed). Philadelphia: Saunders, 2002: 1817-1841.
- 170.NUTI R, MARTINI G, VALENTI R, GIOVANI S, SALVADORI S, AVANZATI A. Prevalence of undiagnosed coeliac disease syndrome in osteoporotic women. *J Intern Med* 2001;250:361-66.
- 171.LINDH E, LJUNGHALL S, LARSSON K, LAVO B. Screening for antibodies against gliadin in patients with osteoporosis. *J Intern Med* 1992;231:403-06.



- 172.SHER KS, MAYBERRY JF. Female fertility, obstetric and gynaecological history in coeliac disease: a case control study. *Acta Paediatr Sypl* 1996,412:76-77.
- 173.CIACCI C, DE ROSA A, DE MICHELE G, et al. Sexual behavior in untreated and treated coeliac patients. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1998,10:649-51.
- 174.MARTINELLI P, TRONCONE R, PAPARO F, et al. Coeliac disease and unfavourable outcome of pregnancy. *Gut* 2000,46:332-35.
- 175.CIACCI C, CIRILLO M, AURIEMMA G, DI DATO G, SABBATINI F, MAZZACCA G. Celiac disease and pregnancy outcome. *Am J Gastroenterol* 1996,91:718-22.
- 176.SMECUOL E, MAURINO E, VAZQUEZ H, et al. Gynaecological and obstetric disorders in coeliac disease: frequent clinical onset during pregnancy or the puerperium. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1996,8:63-89.
- 177.MELONI GF, DESSOLE S, VARGIU N, TOMASI PA, MUSUMECI S. The prevalence of coeliac disease in infertility. *Hum Reprod* 1999,14:2759-61.
- 178.KOLHO KL, TIITINEN A, TULPALLA M, UNKILA-KALLIO L, et al. Screening for coeliac disease in women with a history of recurrent miscarriage or infertility. *Br J Obstet Gynaecol* 1999,106:171-73.
- 179.FARTHING MJ, EDWARDS CR, REES LH, DAWSON AM. Male gonadal function in coeliac disease: sexual dysfunction, infertility, and semen quality. *Gut* 1982,23:608-14.
- 180.LUDVIGSSON JF, LUDVIGSSON J. Coeliac disease in the father affects the newborn. *Gut* 2001,49:169-75.
- 181.DICKEY W. Epilepsy, cerebral calcifications, and coeliac disease. *Lancet* 1994,344:1585-6.
- 182.HADJIVASSILIOU M, CHATTOPADHYAY AK, DAVIES-JONES GA, et al. Neuromuscular disorder as a presenting feature of coeliac disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1997;63:770-5.
- 183.HADJIVASSILIOU M, GRUNEWALD RA, CHATTOPADHYAY AK, DAVIES-JONES GA, et al. Clinical, radiological, neurophysiological, and neuropathological characteristics of gluten ataxia. *Lancet* 1998,352:1582-5.
- 184.PRATESI R, GANDOLFI L, FRIEDMAN H, FARAGE L, et al. Serum IgA antibodies from patients with coeliac disease react strongly with human brain blood-vessel structures. *Scand J Gastroenterol* 1998,33:817-21.
- 185.GOBBI G, BOUQUET F, GRECO L, et al. Epilepsy, cerebral calcifications and celiac disease. *Rev Neurol (Paris)* 1997,153:354.
- 186.PALLIS CA, LEWIS LP. Neurological Complications of Coeliac Disease and Tropical Sprue. *The Neurology of Gastrointestinal Disease. Vol 138.* London, W.B. Saunders, 1974.
- 187.COLLIN P, REUNALA T, PUKKALA E, et al. Coeliac disease- associated disorders and survival. *Gut* 1994,35:1215-8.
- 188.COLLIN P, MAKI M. Associated disorders in coeliac disease: Clinical aspects. *Scand J Gastroenterol* 1994, 29:769.
- 189.CRONIN CC, FEIGHERY A, FERRISS JB, et al. High prevalence of celiac disease among patients with insulin-dependent (type I) diabetes mellitus. *Am J Gastroenterol* 1997,92:2210-2.
- 190.COLLIN P, MAKI M, KEYRILAINEN O, et al. Selective IgA deficiency and coeliac disease. *Scand J Gastroenterol* 1992,27:367.
- 191.GREEN PHR, BYFIELD FC. The diagnosis of celiac disease. *Clin Perspec in Gastroenterol* Nov 1998: 133-139.
- 192.SARDY M, KARPATI S, MERKL B, et al. Epidermal transglutaminase (Tgase 3) is the autoantigen of dermatitis herpetitis. *J Exp Med* 2002,195:747-757.
- 193.MARSH MN. The natural history of gluten sensitivity: defining, refining and redefining. *QJM* 1995,88:9-13.
- 194.TALAL AH, MURRAY JA, GOEKEN JA, SIVITZ WI. Celiac disease in an adult population with insulin-dependent diabetes mellitus: use of endomysial antibody testing. *Am J Gastroenterol* 1997,92:1280-84.
- 195.COUNSELL CE, TAHA A, RUDELL WS. Coeliac disease and autoimmune thyroid disease. *Gut* 1994,35:844-46.
- 196.ILTANEN S, COLLIN P, KORPELA M, et al. Celiac disease and markers of celiac disease latency in patients with primary Sjogren syndrome. *Am J Gastroenterol* 1999,94:1042-46.
- 197.O'LEARY C, WALSH CH, WIENEKE P, et al. Coeliac disease and autoimmune Addison's disease: a clinical pitfall. *QJM* 2002,95:79-82.
- 198.DICKEY W, MCMILLAN SA, CALLENDER ME. High prevalence of celiac sprue among patients with primary biliary cirrhosis. *J Clin Gastroenterol* 1997,25:328-29.

- 199.FONAGER K, SORENSEN HT, NOTGARD, THULSTRUP AM. Cardiomyopathy in Danish patients with coeliac disease. *Lancet* 1999,354:1561.
- 200.VENTURA A, MAGAZZU G, GRECO L. Duration of exposure to gluten and risk for autoimmune disorders in patients with celiac disease. SIGEP Study Group for Autoimmune Disorders in Celiac Disease. *Gastroenterology* 1999,117:297-303.
- 201.TOSCANO V, CONTI FG, ANASTASI E, et al. Importance of gluten in the induction of endocrine autoantibodies and organ dysfunction in adolescent celiac patients. *Am J Gastroenterol* 2000,95:1742-48.
- 202.VENTURA A, NERI E, UGHI C, LEOPALDI A, CITTA A, NOT T. Gluten-dependent diabetes-related and thyroid-related autoantibodies in patients with celiac disease. *J Pediatr* 2000,137:263-65.
- 203.CHIN RL, SANDER HW, BRANNAGAN TH, et al. Celiac neuropathy. *Neurology* 2003,60:1581-85.
- 204.FRUSTACI A, CUOCO L, CHIMENTI C, et al. Celiac disease associated with autoimmune myocarditis. *Circulation* 2002,105:2611-18.
- 205.USAI P, CHESCHI MV, BOY MF, COGONI G, SANTA CRUZ G, BALESTRIERI A. 2 cases of adult celiac disease simulating Berger's disease. *Recenti Prog Med* 1989,80:137-39.
- 206.SHIDRAWI RG, PRZEMIOSLO R, DAVIES DR, et al. Pitfalls in diagnosing coeliac disease. *J Clin Pathol* 1994,47:693-94.
- 207.CARROCCIO A, IACONO G, MONTALTO G, et al. Pancreatic enzyme therapy in childhood celiac disease: a double-blind prospective randomized study. *Dig Dis Sci* 1995,40:2555-60.
- 208.CORAZZA GR, BIAGI F, VOLTA U, ANDREANI ML, et al. Autoimmune enteropathy and villous atrophy in adults. *Lancet* 1997,350:106-09.
- 209.RYAN BM, KELLEHER D. Refractory celiac disease. *Gastroenterology* 2000,119:243-51.
- 210.CELLIER C, PATEY N, MAUVIEUX, et al. Abnormal intestinal intraepithelial lymphocytes in refractory sprue. *Gastroenterology* 1998,114:471-81.
- 211.ISAACSON PG. Relation between cryptic intestinal lymphoma and refractory sprue. *Lancet* 2000,356:178-79.
- 212.CARBONNEL F, GROLLET-BIOUL L, BROUET JC, et al. Are complicated forms of celiac disease cryptic T-cell lymphomas? *Blood* 1998,92:3879-86.
- 213.CARBONNEL F, GROLLET-BIOUL L, BROUET JC, et al. Are complicated forms of celiac disease cryptic T-cell lymphomas? *Blood* 1998,92:3879-86.
- 214.CHOTT A, DRAGOSICS B, RADASZKIEWICZ T. Peripheral T-cell lymphomas of the intestine. *Am J Pathol* 1992,141:1361-71.
- 215.BAGDI E, DISS TC, MUNSON P, ISAACSON PG. Mucosal intra-epithelial lymphocytes in enteropathy-associated T-cell lymphoma, ulcerative jejunitis, and refractory celiac disease constitute a neoplastic population. *Blood* 1999,94:260-64.
- 216.EGA LJ, WALSH SV, STEVENS FM, CONNOLLY CE, EGAN EL, et al. Celiac-associated lymphoma. A single institution experience of 30 cases in the combination chemotherapy era. *J Clin Gastroenterol* 1995,21:123-29.
- 217.GREEN PH, JABRI B. Celiac disease and other precursors to small bowel malignancy. *Gastroenterol Clin North Am* 2002,31:625-39.
- 218.LEWIS HM, RENAULA TL, GARIOCH JJ, et al. Protective effect of gluten-free diet against development of lymphoma in dermatitis herpetiformis. *Br J Dermatol* 1996,135:363-7.
- 219.HOLMES GK, PRIOR P, LANE MR, et al. Malignancy in celiac disease – effect of a gluten free diet. *Gut* 1989,30:333-8.
- 220.HOLMES GK, DUNN GI, COCKEL R, BROOKES VS. Adenocarcinoma of the upper small bowel complicating coeliac disease. *Gut* 1980,21:1010-16.
- 221.CATASSI C, FABIANI E, CORRAO G, et al. Risk of non-Hodgkin lymphoma in celiac disease. *JAMA* 2002,287:1413-19.
- 222.SWINSON CM, SLAVIN G, COLES EC, BOOTH CC. Coeliac disease and malignancy. *Lancet* 1983,1:111-15.
- 223.LOGAN RF, RIFKIND EA, TURNER ID, FERGUSON A. Mortality in celiac disease. *Gastroenterology* 1989,97:265-71.
- 224.BAYLESS TM, KAPLOWITZ RF, SHELLEY WM, et al. Intestinal ulceration a complication of celiac disease. *New Engl J Med* 1967,776:996.
- 225.ISAACSON PG. Intestinal lymphoma and enteropathy. *J Pathol* 1995,177: 111.
- 226.WEINSTEIN WM, SAUNDERS DR, TYTGAT GN, et al. Collagenous sprue- an unrecognised type of malabsorption. *N Engl J Med* 1970,283:1297.

227. BOSSART R, HENRY K, BOOTH CC, et al. Subepithelial collagen in intestinal malabsorption. *Gut* 1975,16:18.
228. FREEMAN HJ. Hyposplenism, antiendomysial antibodies and lymphocytic colitis in collagenous sprue. *Can J Gastroenterol* 1999,13:347.
229. CULLER R, ANABITARTE M, MAYER M. Collagenous sprue and ulcerative jejuno-ileitis in a patient with gluten-induced enteropathy. *Schweiz Med Wochenschr* 1986,116:1343.
230. CELLIER C, DELABESSE E, HELMER C, et al. Refractory sprue, coeliac disease, and enteropathy- associated T-cell lymphoma. French Coeliac Disease Study Group. *Lancet* 2000,356:203.
231. HOLTSMANN M, VON HERBAY A, GALLE PR, et al. Long-term collagenous sprue-remission with a gluten-free diet. *Z Gastroenterol* 1999,37:1163.
232. O'MAHONY S, NAWROZ IM, FERGUSON A. Coeliac disease and collagenous colitis. *Postgrad Med J* 1990,66:238.
233. DAVID A, NELSEN JR. Gluten-Sensitive Enteropathy (Celiac Disease) More Common Than You Think. *American Family Physician* 2002,66(12):2259-66.
234. GREEN PH, JABRI B. Coeliac disease. *Lancet* 2003,362:383-391.
235. BARDELLA MT, MINOLI G, RADAELLI F, et al. Re-evaluation of duodenal endoscopic markers in the diagnosis of celiac disease. *Gastrointest Endosc* 2000,51:714-716.
236. MARSH MN. Gluten, major histocompatibility complex, and the small intestine: A molecular and immunobiological approach to the spectrum of gluten sensitivity. *Gastroenterology* 1992,102:330-54.
237. ANTONIOLI DA. Celiac disease: a progress report. *Modern Pathol* 2003,16:342-46.
238. TURSI A, BRANDIMARTE G. The symptomatic and histologic response to a gluten-free diet in patients with borderline enteropathy. *J Clin Gastroenterol* 2003,36:13-17.
239. KAKAR S, NEHRA V, MURRAY JA, et al. Significance of intraepithelial lymphocytosis in small biopsy samples with normal mucosal architecture. *Am J Gastroenterol* 2003,98:2027-33.
240. ROSTAMI K, KERCKHAERT J, BLOMBERG BME, et al. Sensitivity of antiendomysium and antigliadin antibodies in untreated celiacs: disappointing in clinical practice. *Am J Gastroenterol* 1999,94:888-94.
241. WALKER-SMITH JA, GUARDALINI S, SCHMITZ J, et al. Revised criteria for diagnosis of coeliac disease ( Report of the Working Group of the European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition). *Arch Dis Child* 1990,65:909-11.
242. The UEGW Working Group. When is a coeliac a coeliac? . Report of a group of the United European Gastroenterology Week in Amsterdam, 2001 *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001,13:1-6.
243. CICLITIRA PJ, KING AL, FRASER JS. A technical review on celiac sprue. *Gastroenterology* 2001,120:1526-40.
244. SATEGNA-GUIDETTI C, PULITANO R, GROSSO S, FERFOGLIA G. Serum IgA antiendomysium antibody titres as a marker of intestinal involvement and diet compliance in adult celiac sprue. *J Clin Gastroenterol* 1993,17:123-27.
245. WAHAB PJ, MEIJER JW, MULDER CJJ. Histologic follow-up of people with coeliac disease on a gluten-free diet: slow and incomplete recovery. *Am J Clin Pathol* 2002,118:459-63.
246. COOKE WT, HOLMES GKT. Coeliac disease definition and epidemiology. In: Cooke WT, Holmes GKT, eds, *Coeliac disease*. London: Churchill Livingstone, 1983:2.
247. RUBESIN SE, HERLINGER H, SAUL SH, et al. Adult celiac disease and its complications. *Radiographics* 1989,9:1045-66.
248. SOLLID LM, SCOTT H. New tool to predict celiac disease on its way to the clinics. *Gastroenterology* 1998,115:1584-6.
249. LERNER A, KUMAR V, IANCU TC. Immunological diagnosis of childhood coeliac disease: comparison between antigliadin, antireticulin and antiendomysial antibodies. *Clin Exp Immunol* 1994,95:78-82.
250. SEAN PP, FRY LL, ROSSITER MA, et al. Anti-reticulin antibodies in childhood coeliac disease. *Lancet* 1971,1:834-6.
251. RIZZETO M, DONIAH D. Types of 'reticulin' antibodies detected in human sera by immunofluorescence. *J Clin Pathol* 1973,26:841-51.
252. EADE OE, LLOYD RS, LANG C, WRIGHT R. IgA and IgG reticuline antibodies in coeliac disease and non-coeliac patients. *Gut* 1997,18:991-3.
253. MAKI M, HALLSTROM O, VESIKARI T, et al. Evaluation of a serum IgA class reticuline antibody test for the detection of childhood celiac disease. *J Pediatr* 1984,105:901-5.



254. CHORZELSKI TP, SULEJ J, TCHORZEWSKO H, et al. IgA class endomysium antibodies in dermatitis herpeformis and coeliac disease. *Ann NY Acad Sci* 1983,420:325-34.
255. VOLTA U, MOLINARO N, DE FRANCESCHI L, et al. IgA anti-endomysial antibodies on human umbilical cord tissue for celiac disease screening. Save both money and monkeys. *Dig Dis Sci* 1995,40:1902.
256. KAPUSCINSKA A, ZALEWSKI T, CHORZELSKI TP, et al. Disease specificity and dynamics of changes in IgA class anti-endomysial antibodies in celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1987,6:529.
257. DIETERICH W, LAAG E, SCHOPPER E, et al. Autoantibodies to tissue transglutaminase as predictors of celiac disease. *Gastroenterology* 1998,115:1317-21.
258. TRONCONE R, MAURANO F, ROSSI M, et al. IgA antibodies to tissue transglutaminase: an effective diagnostic test for celiac disease. *J Pediatr* 1999,134:166-171.
259. SBLATTERO D, BERTI I, TREVISIOL C, et al. Human recombinant tissue transglutaminase ELISA: an innovative diagnostic assay for celiac disease. *Am J Gastroenterol* 2000,95:1253-7.
260. CARROCCIO A, GIANNITRAPANI L, SORESI M, et al. Guinea pig transglutaminase immunolinked assay does not predict celiac disease in patients with chronic liver disease. *Gut* 2001,49:506-11.
261. SULKANEN S, HALTTUNENT, LAURIA K, et al. Tissue transglutaminase autoantibody linked immunoabsorbed assay in detecting celiac disease. *Gastroenterology* 1998,115:1322-1328.
262. AGARDH D, BORULF S, LERNMARK A, et al. Tissue transglutaminase immunoglobulin isotypes in children with treated and untreated celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003, 36:77-82.
263. TRONCO R, FRANCESCO M, ROSSI M, et al. IgA antibodies to tissue transglutaminase : an effective diagnostic test for celiac disease. *J Pediatric* 1999,134:166-71.
264. SOLLID LM, MOLBERG O, MCADAM S, et al. Autoantibodies in celiac disease: tissue transglutaminase- guilt by association. *Gut* 1997,41:851-51.
265. SCHUPPAN D, HAHN EG, BIOMEDICINE. Gluten and the gut-lessons for immune regulation. *Science* 2002,297:2218-20.
266. RUSSO PA, CHARSTAND LJ, SIEDEMAN E. Comparative analysis of serologic screening tests for the initial diagnosis of celiac disease. *Pediatrics* 1999,104:75-78.
267. VITORIA JC, ARRIETA A, ARRANZ C, et al. Antibodies to gliadin, endomysium, and tissue transglutaminase. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999,29:571-4.
268. LERNER A. The controversy of the use of anti-gluten antibody (AGA) as a diagnostic tool in celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1991,12:407-9.
269. CATALDO F, MARINO V, BOTTARO G, et al. Celiac disease and selective IgA deficiency. *J Pediatr* 1997,131:306-8.
270. CATALDO E, MARINO V, VENTURA A, et al. Prevalence and clinical features of selective immunoglobulin A deficiency in celiac disease: an Italian multicenter study. *Gut* 1998,42:362-5.
271. LADINSER B, ROSSIPEL E, PITSCHIELER K. Endomysium antibodies in celiac disease: an improved method. *Gut* 1994,35:776-8.
272. HILL ID. What are the sensitivity and specificity of serologic tests for celiac disease? Do sensitivity and specificity vary in different populations? *Gastroenterology* 2005,128:217-221.
273. CANOCCIO A, CANATAIO F, IACONO G, et al. IgA antiendomysial antibodies on the umbilical cord in diagnosing celiac disease: Sensitivity, specificity, and comparative evaluation with the traditional kit. *Scand J Gastroenterol* 1996,31:759-763.
274. BURGİN-WOLFF A, BERGER R, GAZE H, et al. IgG, IgA and IgE gliadin antibody determinations as screening test for untreated celiac disease in children, a multicentre study. *Eur J Pediatr* 1989,148:496-502.
275. BURGİN-WOLFF A, GAZE H, HADZISELIMOVIC F, et al. Antigliadin and antiendomysium antibody determination for celiac disease. *Arch Dis Child* 1991,66:941-47.
276. SACCHETTI L, FERRAJOLO A, SALERNO G, et al. Diagnostic value of various serum antibodies detected by diverse methods in childhood celiac disease. *Clin Chem* 1996,42:1838-42.
277. CARROCCIO A, IACONO G, MONTALTO G, et al. Immunologic and absorptive tests in celiac disease: can they replace intestinal biopsies?. *Scand J Gastroenterol* 1993,28:673-76.
278. NOT T, VENTURA A, PETICARARI S, et al. A new, rapid, non invasive screening test for celiac disease. *J Pediatr* 1993,123:425-27.

279. RAUTONEN J, RAUTONEN N, SAVILAHTI E. Antibodies to gliadin in children with celiac disease. *Acta Paediatr Scand* 1991;80:1200-6.
280. CHARTRAND U, AGULNIK J, VANOUNOU T, et al. Effectiveness of anti gliadin antibodies as a screening test for celiac disease in children. *CMAJ* 1997;157:527-33.
281. FEIGHERY C, WEIR DG, WHELAN A, et al. Diagnosis of gluten-sensitive enteropathy: is exclusive reliance on histology appropriate?. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1998;10:919-25.
282. McMILLAN SA, HAUGHTON DJ, BIGGART JD, et al. Predictive value for coeliac disease of antibodies to gliadin, endomysium, and jejunum in patients attending for jejunal biopsy. *BMJ* 1991;303:1163-65.
283. SATEGNA-GUIDETTI C, GROSSO S, BRUNO M, et al. Comparison of serum anti-gliadin, anti-endomysium and anti-jejunum antibodies in adult celiac sprue. *J Clin Gastroenterol* 1995;20:17-21.
284. VOGELSANG H, GENSER D, WYATT J, et al. Screening for celiac disease: a prospective study on the value of noninvasive tests. *Am J Gastroenterol* 1995;90:394-8.
285. ASCHER H, HAHN-ZORIC M, HANSON LA, et al. Value of serologic markers for clinical diagnosis and population studies of celiac disease. *Scand J Gastroenterol* 1996;31:61-67.
286. CHIRDO FG, RUMBO M, CARABAJAL P, et al. Determination of anti-omega-gliadin antibodies in serological tests for celiac disease. *Scand J Gastroenterol* 2000;35:508-16.
287. BERGER R, SCHMIDT G. Evaluation of six antigliadin assays. *J Immunol Methods* 1996;191:77-86.
288. WOLTERS V, VOOIJS-MOULAERT AF, BURGER H, et al. Human tissue transglutaminase enzyme linked immunosorbent assay outperforms both guinea pig based tissue transglutaminase and anti-endomysium antibodies when screening for coeliac disease. *Eur J Pediatr* 2002 ;161 :284-7.
289. RIBES-KONINCKX C, ALFONSO P, ORTIGOSA L, et al. A beta-turn rich oats peptide as an antigen in an ELISA method for screening of celiac disease in a paediatric population. *Eur J Clin Invest* 2000;30:702-8.
290. GRODZINSKY E, IVARSSON A, JUTO P, et al. New automated immunoassay measuring immunoglobulin A antigliadin antibodies for prediction of celiac disease in childhood. *Clin Diagn Lab Immunol* 2001 ;8 :564-70.
291. ROSTAMI K, MULDER CJ, VAN OVERBEEK FM, et al. Should relatives of coeliacs with mild clinical complaints undergo a small-bowel biopsy despite negative serology?. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2000;12:51-55.
292. BONAMICO M, TIBERTI C, PICARELLI A, et al. Radioimmunoassay to detect antitransglutaminase autoantibodies is the most sensitive and specific screening method for celiac disease. *Am J Gastroenterol* 2001;96:1536-40.
293. Di LEO M, WEISZ G, ANSALDI BALOCCO N. Serum and salivary antiendomysium antibodies in the screening of celiac disease. *Panminerva Med* 1999;41:68-71.
294. PICARELLI A, DI TOLA M, SABBATELLA L, et al. Identification of a new coeliac disease subgroup : antiendomysial and anti-transglutaminase antibodies of IgG class in absense of selective IgA deficiency. *J Intern Med* 2001;249:181-88.
295. MASCART-LEMONE F, LAMBRECHTS A. Serology of celiac disease: early diagnosis and therapeutic impact. *Acta Gastroenterol Belg* 1995;58:388-96.
296. WEST J, LLOYD C, HILL PG, et al. IgA tissue transglutaminase: validation of a commercial assay for diagnosing celiac disease. *Clin Lab* 2002;48:241-146.
297. TESEI N, SUGAI E, VAZQUEZ H, et al. Antibodies to human recombinant tissue transglutaminase may detect celiac disease patients undiagnosed by endomysial antibodies. *Aliment Pharmacol Ther* 2003;17:1415-23.
298. BALDAS V, TOMMASINI A, TREVISIOL C, et al. Development of a rapid non-invasive test for celiac-disease. *Gut* 2000;47:628-31.
299. STEM M. Comparative evaluation of serologic tests for celiac disease: a European initiative toward stardardization. *J Pediatr Gastroenteol Nutr* 2000;31:513-19.
300. BAGNASCO M, MONTAGNA P, ALESSANDRI A, et al. IgA antiendomysium antibodies in human umbilical cord sections as a screening test in relatives of patients with celiac disease. *Allergy* 1997;52:1017-21.
301. SALMASO C, ACMANT A, RESCE G, et al. Comparison of ELISA for tissue transglutaminase autoantibodies with anti endomysium antibodies in pediatric and adult patients with celiac disease. *Allergy* 2001;56:544-47.

- 302.SATEGNA-GUIDETTI C, GROSSO SB, BRUNO M, et al. Is human umbilical cord the most suitable substrate for the detection of endomysium antibodies in the screening and follow-up of coeliac disease ?. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1997;9:655-6.
- 303.DICKEY W, McMILLAN SA, HUGHES DF. Sensitivity of serum tissue transglutaminase antibodies for endomysial antibody positive and negative celiac disease. *Scand J Gastroenterol* 2001;36:511-14.
- 304.DAHELE AV, ALDHOUS MC, HUMPHREYS K, et al. Serum IgA tissue transglutaminase antibodies in celiac disease and other gastrointestinal diseases. *QJM* 2001;94:195-205.
- 305.FABIANI E, CATASSI C. International Working Group on Eu-tTG. The serum IgA class anti-tissue transglutaminase antibodies in the diagnosis and follow up of celiac disease. Results of an international multi-centre study. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001;13:659-665.
- 306.SEISLER J, BORNS S, WOHLRAB U, et al. Antibodies to human recombinant tissue transglutaminase measured by radio ligand assay: evidence for high diagnostic sensitivity for celiac disease. *Horm Metab Res* 1999;31:375-9.
- 307.LEON F, CAMERERO C, R-PENA R, et al. Anti-transglutaminase IgA ELISA: clinical potential and drawbacks in celiac disease diagnosis. *Scand J Gastroenterol* 2001;36:849-53.
- 308.CATALDO F, LIO D, MARINO V, et al. IgG(1) antiendomysium and IgG anti-tissue transglutaminase (anti-tTG) antibodies in coeliac patients with selective IgA deficiency. Working Groups on Coeliac Disease of SIGEP and Club del Tenue. *Gut* 2000;47:366-69.
- 309.TURSI A, BRANDIMARTE G, GIORGETTI G, et al. Low prevalence of antigliadin and anti-endomysium antibodies in subclinical/silent celiac disease. *Am J Gastroenterol* 2001;96:1507-10.
- 310.DICKEY W, HUGHES DF, MCMILLAN SA. Reliance on serum endomysial antibody testing underestimates the true prevalence of coeliac disease by one fifth. *Scand J Gastroenterol* 2000;35:181-83.
- 311.GREEN PH, BARRY M, MATSUTANI M. Serologic tests for celiac disease. *Gastroenterology* 2003;124:585-86.
- 312.KAUKINEN K, PARTANEN J, MAKI M, COLLIN P. HLA-DQ typing in the diagnosis of celiac disease. *Am j Gastroenterol* 200;97:695-99.
- 313.MISRA RC, KASTHURI D, CHUTTANI HK. Adult celiac disease in tropics. *Br Med J* 1966;2:1230.
- 314.DAVIDSON L SP, FOUNTAIN JR. Incidence of sprue syndrome with some observation on the natural history. *BMJ* 1950;1:1157-61.
- 315.MEEUWSE GW. Diagnostic criteria in coeliac disease. *Acta Paediatr Scand* 1970;59:461-3.
- 316.MYLOTTE M, EGAN-MITCHELL B, MCCARTHY CF, et al. Incidence of coeliac disease in the west of Ireland. *BMJ* 1973;1:703-5.
- 317.LOGAN RFA, RIFKING EA, BUSUTTIL A, et al. Prevalence and 'incidence' of celiac disease in Edinburgh and the Lothian region of Scotland. *Gastroenterology* 1986;90:334-42.
- 318.VAN STIRUM J, BAERLOCHER K, FANCONI A, et al. The incidence of coeliac disease in children in Switzerland. *Helv Paediatr Acta* 1982;37:421-30.
- 319.LITTLEWOOD JM, CROLLICK AJ, RICHARDS IDG. Childhood coeliac disease is disappearing. *Lancet* 1980;2:1359.
- 320.DOSSETOR JFB, GIBSON AAM, McNEISH AS, et al. Childhood coeliac disease is disappearing. *Lancet* 1981;1:322-23.
- 321.STEVENS FM, EGAN-MITCHELL B, CRYAN E, et al. Decreasing incidence of coeliac disease. *Arch Dis Child* 1987;62:465-8.
- 322.GRECO L, MAKI M, DIDONATO F, et al. Epidemiology of coeliac disease in Europe and the Mediterranean area. *Dyn Nutr Res* 1992;2:25-44.
- 323.CATASSI C, RATSCH IM, FABIANI E, et al. Coeliac Disease in the year 2000: exploring the iceberg. *Lancet* 1994;343:200-203.
- 324.GRODZINSKY E, FRANZEN L, HED J, et al. High prevalence of celiac disease in healthy adults revealed by antigliadin antibodies. *Ann Allergy* 1992;69:66-70.
- 325.ASCHER H, KRANTZ I, KRISTIANSSON B, et al. Increased incidence of celiac disease in Sweden. *Arch Dis Child* 1991;66:608-11.
- 326.KOLHO KL, FARKKILA MA, SAVILAHTI E. Undiagnosed celiac disease is common in Finnish adults. *Scand J Gastroenterol* 1998;33:1280-3.
327. DUBE C, ROSTOM A, SY R, et al. The prevalence of celiac disease in average-risk and at-risk Western European populations: A systematic review. *Gastroenterology* 2005;128:σελ.



- 328.FASANO A, BERTI I, GERARDUZZI T, et al. Prevalence of celiac disease in at-risk and not-at-risk groups in the United States: a large multicenter study. *Arch Intern Med* 2003,163:286-292.
- 329.NOT T, HORVATH K, HILL ID, et al. Celiac disease risk in the USA: high prevalence of antiendomysium antibodies in healthy blood donors. *Scand J Gastroenterol* 1998,33:494-8.
- 330.TOMMASINI A, NOT T, KIREN V, et al. Mass screening for coeliac disease using antihuman transglutaminase antibody assay. *Arch Dis Child* 2004,89:512-15.
- 331.CATASSI C, FANCIULLI G, D'APPELLO AR, et al. Antiendomysium versus antigliadin antibodies in screening the general population for coeliac disease. *Scand J Gastroenterol* 2000,35:732-6.
- 332.MAZZETTI DP, GIORGETTI GM, GREGORI M, et al. Subclinical coeliac disease. *Ital J Gastroenterol* 1992,24:352-4.
- 333.PITTSCHIELER K, LADINSER B. Coeliac disease: screened by a new strategy. *Acta Paediatr* 1996,412:42-45.
- 334.TREVISIOL C, NOT T, BERTI I, et al. Screening for coeliac disease in healthy blood donors at two immuno-transfusion centers in north-east Italy. *Ital J Gastroenterol Hepatol* 1999,31:584-586.
- 335.VOLTA U, BELLENTANI S, BIANCHI FB, et al. High prevalence of celiac disease in Italian general population. *Dig Dis Sci* 2001,46:1500-5.
- 336.CATASSI C, FABIANI E, RATSCH IM, et al. The coeliac iceberg in Italy. A multicentre antigliadin antibodies screening for coeliac disease in school-age subjects. *Acta Paediatr* 1996,412:29-35.
- 337.JOHNSTON SD, WATSON RG, MCMILLAN SA, et al. Coeliac disease detected by screening is not silent-simply unrecognised. *QJM* 1998,91:853-60.
- 338.CARLSSON AK, AXELSSON IE, BORULF, et al. Serological screening for celiac disease in healthy 2.5-year-old children in Sweden. *Pediatrics* 2001,107:42-5.
- 339.BORCH K, GRODZINSKY E, PETERSSON F, et al. Prevalence of celiac disease and relations to *Helicobacter pylori* infection and duodenitis in a Swedish adult population sample: a histomorphological and serological survey. *Inflammopharmacology* 2000,8:341-50.
- 340.JAEGER C, HATZIAGELAKI E, PETZOLDT R, et al. Comparative analysis of organ-specific autoantibodies and celiac disease-associated antibodies in type 1 diabetic patients, their first-degree relatives, and healthy controls subjects. *Diabetes Care* 2001,24:27-32.
- 341.WEST J, LOGAN RFA, HILL PG, et al. Seroprevalence, correlates, and characteristics of undetected coeliac disease in England. *Gut* 2003,52:960-5.
- 342.SJOBERG K, ALM R, IVARSSON SA, et al. Prevalence and clinical significance of gliadin antibodies in healthy children and adults. *Scand J Gastroenterol* 1994,29:248-54.
- 343.CZIZMADIA CGDS, MEARIN ML, VON BLOMBERG BME, et al. An iceberg of childhood coeliac disease in the Netherlands. *Lancet* 1999,353:813-4.
- 344.DICKEY W, MCMILLAN SA, BHARUCHA C, et al. Antigliadin antibodies in blood donors in Northern Ireland. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1992,4:739-41.
- 345.MAKI M, MUSTALAHTI K, KOKKONEN J, et al. Prevalence and clinical significance of gliadin antibodies in healthy children and adults. *Scand J Gastroenterol* 1994,29:248-54.
- 346.SANDERS DS, PATEL D, STEPHENSON TJ, et al. A primary care cross-sectional study of undiagnosed adult coeliac disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003,15:407-13.
- 347.RUTZ R, RITZLER R, FIERZ W, et al. Prevalence of asymptomatic celiac disease in adolescents of eastern Switzerland. *Swiss Med Wkly* 2002,132:43-47.
- 348.IVARSSON A, PERSSON LA, JUTO P, et al. High prevalence of undiagnosed coeliac disease in adult : a Swedish population-based study. *J Inter Med* 1999,245:63-68.
- 349.SJOBERG K, ERIKSSON KF, BREDBERG A, et al. Regional differences in coeliac disease prevalence in Scandinavia? *Scand J Gastroenterol* 1999,34:41-45.
- 350.RIESTRA S, FERNANDEZ E, RODRIGO L, et al. Prevalence of coeliac disease in the general population of northern Spain. Strategies of serologic screening. *Scand J Gastroenterol* 2000,35:398-402.
- 351.CORAZZA G, ANDREANI ML, BIAGI F, et al. The smaller size of the 'coeliac iceberg' in adults. *Scand J Gastroenterol* 1997,32(9):917-919.
- 352.HOVDENAK N, HOVLID E, AKSNES L, et al. High prevalence of asymptomatic coeliac disease in Norway: a study of blood donors. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999,11(2):185-187.
- 353.ROSTAMI K, MULDER CJ, WERE JM, et al. High prevalence of celiac disease in apparently healthy blood donors suggests a high prevalence of undiagnosed celiac disease in the Dutch population. *Scand J Gastroenterol* 1999,34(3):276-279.

354. PITTSCHIELER K, LADINSER B. Coeliac disease: screened by a new strategy. *Acta Paediatr* 1996;412:42-45.
355. MAKI M, MUSTALAHTI K, KOKKONEN J, et al. Prevalence of celiac disease among children in Finland. *N Engl J Med* 2003;348(25):2517-2524
356. COLLIN P, RASMUSSEN M, KYRONPALO S, et al. The hunt for coeliac disease in primary care. *QJM* 2002;95(2):75-77.
357. WEILE I, GRODZINSKY E, SKOGH T, et al. High prevalence rates of adult silent coeliac disease, as seen in Sweden, must be expected in Denmark. *APMIS* 2001;109(11):745-750.
358. OLERUP O, ZETTERQUIST H. HLA-DR typing by PCR amplification with sequence-specific primers (PCR-SSP) in 2 hours: an alternative to serological DR typing in practice including donor-recipient matching in cadaveric transplantation. *Tissue Antigens* 1992;39:225-235.
359. IVARSSON A, PERSSON LA, NYSTROM, et al. Epidemic of coeliac disease in Swedish children. *Acta Paediatr* 2000;89:165-171.
360. HUHTASAARI F, ASPLUND K, STEGMAYR B, et al. Trends in cardiovascular risk factors in the northern Sweden MONICA study. Who are the winners; *Cardiovascular Risk Factors* 1993;3:215-21.
361. VOLTA U, MOLINARO N, DE FRANCESCHI L, et al. Human umbilical cord as substrate for IgA antiendomysial antibodies allows large scale screening for celiac sprue. *J Clin Gastroenterol* 1996;23:18-20.
362. McFARLANE XA, BHALLA AK, REEVES DE, et al. Osteoporosis in treated adult coeliac disease. *Gut* 1995;36:710-714.
363. FERREIRA M, LLOYD DAVIES S, BUTLER M, et al. Endomysial antibody :Is the best screening test for coeliac disease? *Gut* 1992;33:1633-1637.
364. MAKI M, HOLM K, KOSKIMIES S, et al. Normal small bowel biopsy followed by celiac disease. *Arch Dis Child* 1990;65:1137-41.
365. GRODZINSKY E, HED J, SKOGH T. IgA endomysium antibodies have a high positive predictive value for celiac disease in asymptomatic patients. *Allergy* 1994;49:593-7.
366. GOMEZ JC, SELVAGGIO G, PIZARRO B, et al. Value of a screening algorithm for the celiac disease using tissue transglutaminase antibodies as first level in a population-based study. *Am J Gastroenterol* 2002;97:2785-90.
367. LAGERQVIST C, IVARSSON A, JUTO P, et al. Screening for adult coeliac disease- which serological marker(s) to use? *J Intern Med* 2001;250:241-8.
368. TREVISIOL C, VENTURA A, BALDAS V, et al. A Reliable Screening Procedure fo Coeliac Disease in Clinical Practice. *Scand J Gastroenterol* 2002;6:679-684.
369. ROSTAMI K, KERCKHAERT J, TIEMESSEN R, et al. The relationship between anti-endomysium antibodies and villous atrophy in celiac disease using both monkey and human substrate. *Eur J Gastroentrol Hepatol* 1999;11:439-42.
370. LEON F, PENA R, CAMERERO C, et al. Limitations of anti-guinea pig liver transglutaminase IgA in screening of coeliac disease. *Gastroenterology* 2001;120:586-87.
371. REEVES G, BURNS C, HALL S, et al. The measurement of IgA and IgG transglutaminase antibodies in celiac disease: a comparison with current diagnostic methods. *Pathology* 2000;32:181-85.
372. GERMENIS A.E, YIANNAKI E, ZACHOU K, ROKA V, et al. Prevalence and clinical significance of immunoglobulin A antibodies against tissue transglutaminase in patients with diverse chronic liver diseases. *Clin Diagn Lab Immunol* 2005;12:941-48.
373. ARBUCKLE M, McCLAIN M, RUBERTONE M, et al. Development of autoantibodies before the clinical onset of systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 2003;349:1526-1533.
374. RAMOS-CASALS M, GARCIA-CARRASCO M, BRITO M, et al. Autoimmunity and geriatrics : clinical significance of autoimmune manifestations in the enderly. *Lupus* 2003;12:341-355.
375. KUMAR V, JARZABEK -CHORZELSKA M, SULEJ J, et al. Celiac disease and immunoglobulin A deficiency: how effective are the serological methods for diagnosis?. *Clin Diagn Lab Immunol* 2002;9:1295-1300.
376. LOCK RJ, UNSWORTH DJ. Identifying immunoglobulin-A-deficient children and adults does not necessarily help the serologic diagnosis of coeliac disease. *J Paediatr Gastroenterol Nutr* 1999;28:81-83.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η κοιλιόκακη είναι μια ανοσο-μεσολαβούμενη εντεροπάθεια που αναπτύσσεται, επί συγκεκριμένου γενετικού υποστρώματος, μετά από την κατανάλωση της γλουτένης των σιτηρών. Χαρακτηρίζεται από δυσαπορρόφηση θρεπτικών ουσιών από το λεπτό έντερο, βελτιώνεται κλινικά και ιστολογικά μετά από δίαιτα ελεύθερη γλουτένης και υποτροπιάζει όταν η γλουτένη επανεισάγεται. Τα τελευταία χρόνια, μελέτες από διάφορες χώρες έχουν δείξει ότι η κοιλιόκακη αφορά όλες τις ηλικίες και όχι μόνο την παιδική, εμφανίζει πολυπλοκότερη κλινική εικόνα και είναι συχνότερη απ'ότι πιστεύαμε παλιότερα, ενώ έχουν αναπτυχθεί και νέες ορολογικές δοκιμασίες που κάνουν δυνατή την εφαρμογή προγραμμάτων ομαδικού ελέγχου για την κοιλιόκακη. Σκοπός της παρούσας μελέτης, ήταν η διενέργεια ενός ορολογικού ομαδικού ελέγχου για την κοιλιόκακη στον ενήλικα πληθυσμό της Θεσσαλίας, χρησιμοποιώντας έναν αλγόριθμο διερεύνησης που πρόσφατα έχει προταθεί και μια καινούργια ορολογική δοκιμασία, αυτήν της ανίχνευσης των αντισωμάτων έναντι της tTG.

Το υλικό της μελέτης αποτέλεσαν 2.230 άτομα ( 1.226 γυναίκες: 1.004 άνδρες, μέση ηλικία 46 έτη και εύρος ηλικιών 18-80 έτη), που επιλέχθηκαν από το γενικό ενήλικα θεσσαλικό πληθυσμό με συστηματική τυχαία δειγματοληψία. Στον ορό όλων των ατόμων εμετρείτο με ανοσονεφελομετρία η IgA, με σκοπό τον εντοπισμό ατόμων με εκλεκτική IgA-ανεπάρκεια. Επί φυσιολογικής IgA, ακολουθούσε προσδιορισμός των IgA και IgG αντισωμάτων έναντι κακαθαρμένης ιστικής τρανσγλουταμινάσης από ανθρώπινα ερυθροκύτταρα (αντι-htTG), με ενζυμική ανοσοπροσροφητική μέθοδο προσδιορισμού [enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)]. Στα IgA ή/και IgG αντι-htTG (+) δείγματα προσδιορίζονταν τα έναντι ενδομυϊου IgA αντισώματα (EmA) με έμμεσο ανοσοφθορισμό. Επί εκλεκτικής IgA-ανεπάρκειας, γίνονταν ανίχνευση των IgG αντισωμάτων έναντι γλοιαδίνης (AGA) και ιστικής τρανσγλουταμινάσης (αντι-htTG). Στα παραπάνω IgA EmA(+) ή IgG AGA(+) άτομα, προτεινόνταν, στη συνέχεια, βιοψία λεπτού εντέρου και HLA γονιδιακή τυποποίηση.

Δεν εντοπίστηκαν άτομα με εκλεκτική IgA ανεπάρκεια. Βιοψία λεπτού εντέρου προτάθηκε στα 4 άτομα που βρέθηκαν να είναι θετικά για τα αντισώματα EmA, τα οποία την αποδέχθηκαν και η οποία σε όλες

τις περιπτώσεις, απέδειξε την παρουσία κοιλιοκάκης. Κατόπιν τούτου, η συχνότητα της νόσου στον πληθυσμό που ελέγχθηκε, ανέρχεται σε 1:558, ή 0,18%, ή 1,8 προς 1.000 .

Τα άτομα που βρέθηκαν πάσχοντα (2 άνδρες και 2 γυναίκες), είχαν ηλικία 18, 20, 26 και 35. Τα δύο από τα άτομα που ανιχνεύθηκαν ήταν κατά τη στιγμή του ελέγχου κλινικά υγιή και τα άλλα δύο εμφάνιζαν αμβληχρά συμπτώματα της νόσου τα οποία και υποχώρησαν μετά τη δίαιτα ελεύθερη γλουτένης. Και τα τέσσερα άτομα είχαν απλότυπο HLA-DQ2, ο οποίος κλασσικά σχετίζεται με τη νόσο.

Συμπερασματικά, η πρώτη αυτή μελέτη ορολογικού ομαδικού ελέγχου για την κοιλιοκάκη στον Ελλαδικό χώρο, επέδειξε μια συχνότητα της νόσου μεταξύ των χαμηλότερων της Ευρώπης που πιθανότατα δικαιολογείται από τη γεωγραφική θέση της χώρας μας στο νοτιότερο άκρο της Ευρώπης. Τα περιστατικά κοιλιοκάκης που ανιχνεύθηκε θα είχαν παραμείνει αδιάγνωστα χωρίς έναν ομαδικό έλεγχο καθώς ανήκαν είτε στην άτυπη είτε στην σιωπηλή μορφή της νόσου. Η μεθοδολογία που χρησιμοποιήθηκε με τον προσδιορισμό των αντισωμάτων tTG ως πρώτο βήμα ελέγχου και την HLA γονιδιακή τυποποίηση ως δοκιμασίας ενίσχυσης της διάγνωσης μαζί με την βιοψία, φαίνεται να είναι πολύ χρήσιμη και αποτελεσματική είτε σε πληθυσμιακούς ομαδικούς ελέγχους, είτε σε διερεύνηση της νόσου σε ειδικές ομάδες ή συγκεκριμένους ασθενείς. Ο ρόλος των γιατρών της Πρωτοβάθμιας Φροντίδας Υγείας στην ανίχνευση των περιστατικών κοιλιοκάκης, μεταξύ των ασθενών με συμπτώματα και/ή καταστάσεις που σχετίζονται με την κοιλιοκάκη, είναι αποφασιστικός καθώς ακόμη δεν έχει καθοριστεί η ανάγκη ομαδικών πληθυσμιακών ελέγχων για τη νόσο.

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- Η συχνότητα της κοιλιοκάκης στον ενήλικα γενικό πληθυσμό της Θεσσαλίας υπολογίστηκε, βάσει των αποτελεσμάτων της παρούσας μελέτης, στο 1,8 ανά 1.000 άτομα ( 0,18% ή 1:558).
- Όλα τα περιστατικά κοιλιοκάκης που ανιχνεύθηκαν ανήκαν είτε στην άτυπη είτε στη σιωπηλή μορφή της νόσου, ενισχύοντας έτσι την άποψη της πολυπλοκότητας της κλινικής εικόνας, αλλά και του μεγάλου ποσοστού των ασθενών που παραμένουν αδιάγνωστοι σύμφωνα με το μοντέλο του “παγόβουνου της κοιλιοκάκης”.
- Πολύ χρήσιμος και αποτελεσματικός σε μελέτες ορολογικού ομαδικού ελέγχου, αποδείχθηκε ο αλγόριθμος της παρούσας μελέτης, ο οποίος αρχικά χρησιμοποιεί μιας υψηλής ευαισθησίας δοκιμασία, δηλαδή τον προσδιορισμό με ELISA των IgA-tTG και επί θετικών δειγμάτων επιβεβαίωση με τον προσδιορισμό των υψηλής ειδικότητας αντισωμάτων EmA, με την προϋπόθεση ότι έχει αποκλειστεί η εκλεκτική IgA ανεπάρκεια.
- Ο προσδιορισμός των αντισωμάτων έναντι της ανθρώπινης tTG, είναι μια δοκιμασία εύκολα εφαρμόσιμη σε ευρείας κλίμακας μελέτες, γιατί είναι προτυποποιημένη, απλή, αντικειμενική, με υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα και είναι αυτή που προτείνεται από την παρούσα μελέτη ως το πρώτο επίπεδο ελέγχου.
- Η HLA γονιδιακή τυποποίηση για τα αλληλία HLA-DQ2 ή/και -DQ8 προτείνεται να χρησιμοποιείται σε αλγόριθμους διερεύνησης της κοιλιοκάκης γιατί ενισχύει τη διάγνωση της νόσου.
- Η συστηματική ανίχνευση (case-finding) των περιπτώσεων κοιλιοκάκης από τους γιατρούς της Πρωτοβάθμιας Φροντίδας Υγείας, με ελέγχους ασθενών με συμπτώματα και/ή καταστάσεις που σχετίζονται με την κοιλιοκάκη, είναι η καλύτερη, επί του παρόντος και μέχρις ότου αποδειχθεί η ανάγκη ή όχι μαζικών ομαδικών ελέγχων, επιδημιολογική προσέγγιση της κοιλιοκάκης.



# Serological Screening for Coeliac Disease in the Adult General Population of Thessaly

## SUMMARY AND CONCLUSIONS

Coeliac disease (CD) is an immune mediated enteropathy triggered by ingestion of gluten containing grains in genetically susceptible individuals. It is characterized by small intestinal malabsorption of nutrients, prompt clinical and histologic improvement after adherence to a strict gluten-free diet and clinical relapse when gluten is reintroduced. Recent studies from several countries have showed that celiac disease is increasingly being diagnosed in adults, has a wide spectrum of clinical manifestations and is much more frequent than previously thought, while the availability of new, accurate serologic tests has made possible screening for coeliac disease in the general population. The aim of the present study was the implementation of a serologic screening for coeliac disease in the adult general population of Thessaly, using a new diagnostic algorithm and a novel screening test- the measurement of anti-tissue transglutaminase antibodies.

The study included 2,230 subjects (1,226 women:1,004 men, median age 46yr, range 18-80 yr), which were selected, with random systematic sampling, from the adult general population of Thessaly. All the serum samples obtained were tested for total IgA serum levels, to exclude IgA deficiency. Samples with total IgA within normal range, were tested for IgA and IgG antibodies against native human tissue transglutaminase (h-tTG) purified from red blood cells, using enzyme linked immunoabsorbent (ELISA); samples that were anti-tTG antibodies positive were tested for IgA anti-endomysial antibodies (EmA) by indirect immunofluorescence using as substrate sections of monkey distal esophagus. Samples from subjects with selective IgA deficiency were examined for IgG antigliadin (AGA) and anti-tTG antibodies. Subjects who were EmA-positive or AGA-positive were referred for intestinal biopsy and HLA typing.

No subject with selective IgA deficiency was detected. Four individuals tested positive for anti-endomysial antibodies, all of



whom were biopsy-proven coeliacs. Therefore, the celiac disease prevalence in this general population sample is 1:558 or 1.8 per 1,000. The four new patients with abnormal histology (2 males:2 females) were at the age of 18, 20, 26 and 35. Two of them were considered to be asymptomatic and two presented with a subclinical course. All four had the heterodimer HLA-DQ2.

This first serological screening study for coeliac disease in Greece, has demonstrated that the coeliac disease prevalence is lower than the prevalence of the disease in other European populations, a result that is possibly justified by the geographical position of our country to the south of Europe. The four cases of coeliac disease detected, would have remained undiagnosed without a screening programme, as they had either atypical or no symptoms. The algorithm we used, including anti-tTG antibodies determination as the first step test and HLA typing as a confirmatory test additional to the intestinal biopsy, seems to be a useful tool either in mass screening programmes or for serological screening of patients with coeliac-associated symptoms or conditions. The case-finding is the appropriate method for diagnosing coeliac disease and the role of primary care in this epidemiological approach is essential. The need for CD mass screening of the general population is not currently recommended.